THE UNIVERSITY
OF ILLINOIS
LIBRARY
589.95
D72p2
v.2

Bibliothèque du Doctorat en Médecine

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

A. GILBERT & **L. FOURNIER**

Professeur à la Faculté de médecine de Paris,
Médecin de l'Hôtel-Dieu,
Membre de l'Académie de médecine.

Ancien chef de clinique de la Faculté
de médecine de Paris,
Médecin de l'hôpital Cochin.

1909-1921, 35 volumes in-8 de 400 à 800 pages, avec figures.

BIBLIOTHÈQUE DU DOCTORAT EN MÉDECINE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

A. GILBERT & L. FOURNIER

Tous ces volumes se vendent brochés et cartonnés.

Pour le cartonnage, ajouter 6 francs au prix du volume broché

PREMIER EXAMEN

ANATOMIE. — DISSECTION. — HISTOLOGIE. — ÉLÉMENTS DE PATHOLOGIE GÉNÉRALE.

Précis d'Anatomie, par le Dr *GRÉGOIRE*, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris. 3 vol. petit in-8.

Précis d'Histologie, 1 vol. petit in-8 de 500 pages.

Le premier Livre de Médecine, par le Dr *ACHARD*, professeur à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Beaujon. *2e édit.*, 1921, 1 vol. in-8 de 352 pages avec 214 figures noires et coloriées..... **25 fr.**

DEUXIÈME EXAMEN

PHYSIOLOGIE. — PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES.

Précis de Physiologie, 1 vol. petit in-8 de 500 pages avec figures.

Précis de Physique médicale, par le Dr *André BROCA*, professeur à la Faculté de médecine de Paris, membre de l'Académie de médecine. *3e édit.*, 1920, 1 vol. petit in-8 de 650 pages avec 379 figures..... **16 fr.**

Précis de Chimie biologique, par le Dr *DESGREZ*, professeur à la Faculté de médecine de Paris, membre de l'Académie de médecine. 1921, 1 vol. petit in-8 de 500 pages avec figures..... **25 fr.**

TROISIÈME EXAMEN

I. — MÉDECINE OPÉRATOIRE. — ANATOMIE TOPOGRAPHIQUE.

Précis de Médecine opératoire, par le Dr *LECÈNE*, professeur à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien des hôpitaux de Paris. *2e édit.*, 1921, 1 vol. petit in-8 de 320 pages avec 321 figures..... **18 fr.**

Précis d'Anatomie topographique, par le Dr *SOULIÉ*, professeur à la Faculté de médecine de Toulouse. 1911, 1 vol. petit in-8 de 720 pages, avec 245 figures noires et coloriées..... **18 fr.**

BIBLIOTHÈQUE DU DOCTORAT EN MÉDECINE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

A. GILBERT & L. FOURNIER

TROISIÈME EXAMEN (Suite)

II. — PATHOLOGIE EXTERNE. — OBSTÉTRIQUE.

Précis de Pathologie externe, par les Drs *FAURE, ALGLAVE, DESMAREST, OKINCZYC, OMBRÉDANNE, SCHWARTZ, MATHIEU*. 1909-1921, 5 vol. petit in-8 de chacun 500 pages avec figures coloriées ..... 80 fr.

Chaque volume se vend séparément.

I. **Pathologie chirurgicale générale**, par le Dr *J.-L. FAURE*, professeur à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien de l'hôpital Broca ; *ALGLAVE* et *DESMAREST*, professeurs agrégés à la Faculté, chirurgiens des hôpitaux de Paris. 1 vol. petit in-8 de 500 pages avec figures.

II. **Tête, Cou, Rachis**, par le Dr *OKINCZYC*, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien des hôpitaux. 1916, 1 vol. petit in-8 de 400 pages avec figures noires et coloriées ..... 12 fr.

III. **Poitrine et Abdomen**, par le Dr *OMBRÉDANNE*, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien des hôpitaux. 1909, 1 vol. petit in-8 de 400 pages avec 180 figures noires et coloriées ..... 12 fr.

IV. **Organes génito-urinaires**, par les Drs *A. SCHWARTZ* et *P. MATHIEU*, professeurs agrégés à la Faculté de médecine de Paris, chirurgiens des hôpitaux de Paris. 1912, 1 vol. petit in-8 de 400 pages avec figures noires et coloriées ..... 12 fr.

V. **Membres**, par le Dr *P. MATHIEU*, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien des hôpitaux de Paris. 1921, 1 vol. petit in-8 de 350 pages avec figures noires et coloriées ..... 24 fr.

Précis d'Obstétrique, par le Dr *FABRE*, professeur à la Faculté de médecine de Lyon. *3e édit.*, 1921, 1 vol. petit in-8 de 756 pages avec 466 fig. *Sous presse.*

III. — PATHOLOGIE GÉNÉRALE. — PARASITOLOGIE. — MICROBIOLOGIE. PATHOLOGIE INTERNE. — ANATOMIE PATHOLOGIQUE.

Précis de Pathologie générale, par les Drs *H. CLAUDE* et *Jean CAMUS*, professeurs agrégés à la Faculté de médecine de Paris, médecins des hôpitaux. *2e édit.*, 1921, 1 vol. petit in-8 de 680 pages avec figures noires et color. *Sous presse.*

Précis de Parasitologie, par le Dr *GUIART*, professeur à la Faculté de médecine de Lyon. *2e édit.*, 1921, 1 vol. petit in-8 de 610 pages avec 549 figures. *Sous presse.*

Précis de Bactériologie, par les Drs *DOPTER* et *SACQUÉPÉE*, professeurs à l'École du Val-de-Grâce. *2e édit.*, 1921, 2 vol. petit in-8 ensemble 1 100 pages avec 389 figures ..... 55 fr.

Tome I. **Technique générale et technique spéciale.** 1 vol. ..... 25 fr.

Tome II. **Technique spéciale**, 1 vol. ..... 30 fr.

Précis de Pathologie interne, par les Drs *GILBERT, WIDAL, CASTAIGNE, CHABROL, H. CLAUDE, DOPTER, DUMONT, M. GARNIER, JOMIER, JOSUÉ, LOEPER, RATHERY, RIBIERRE, PAILLARD, PAISSEAU, SAINT-GIRONS*. 5 vol. petit in-8 de 500 à 800 pages chacun avec figures.

Chaque volume se vend séparément.

I. **Maladies infectieuses et diathésiques. Intoxications. Maladies du sang**, par les Drs *DOPTER*, professeur au Val-de-Grâce ; *RATHERY*, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, médecin des hôpitaux ; *RIBIERRE*, professeur agrégé à la Faculté de Paris, médecin des hôpitaux de Paris. 1912, 1 vol. petit in-8 de 880 pages avec figures noires et coloriées ..... 16 fr.

II. **Maladies de l'appareil respiratoire et de l'appareil circulatoire**, par les Drs *LOEPER*, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris ; *JOSUÉ*, médecin des hôpitaux de Paris ; *PAISSEAU*, médecin des hôpitaux de Paris ; *PAILLARD*, ancien interne des hôpitaux de Paris. 1914, 1 vol. petit in-8 de 748 pages avec 175 figures noires et color.. 16 fr.

III et IV. **Maladies du système nerveux et des glandes à sécrétion interne**, par les Drs *CLAUDE* et *GARNIER*, professeurs agrégés à la Faculté de médecine de Paris, médecins des hôpitaux de Paris. 1921, 2 vol. petit in-8, ensemble 800 pages, avec figures... 40 fr.

V. **Maladies de l'appareil digestif et de l'appareil urinaire**, par les Drs *GILBERT*, professeur à la Faculté de médecine de Paris, membre de l'Académie de médecine ; *CHABROL, DUMONT, JOMIER, SAINT-GIRONS, WIDAL*, professeur à la Faculté de médecine de Paris, membre de l'Académie des sciences et de l'Académie de médecine ; *CASTAIGNE*, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris. 1 vol. petit in-8, avec figures.

Précis d'Anatomie pathologique, par les Drs *ACHARD*, professeur, et *LOEPER*, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris. *2e édit.*, 1916, 1 vol. petit in-8 de 600 pages avec 332 figures et 2 planches coloriées ..... 17 fr.

BIBLIOTHÈQUE DU DOCTORAT EN MÉDECINE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

A. GILBERT & L. FOURNIER

QUATRIÈME EXAMEN

THÉRAPEUTIQUE. — MATIÈRE MÉDICALE. — PHARMACOLOGIE. HYGIÈNE. — MÉDECINE LÉGALE.

Précis de Thérapeutique, par les Drs *P. CARNOT* et *RATHERY*, professeur et agrégé de thérapeutique à la Faculté de médecine de Paris, médecins des hôpitaux. 1921, 1 vol. petit in-8 de 500 pages.

Précis de Matière médicale et de Pharmacologie. 1 vol. petit in-8 de 500 pages.

Précis d'Hygiène, par le Dr *MACAIGNE*, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris. *2e édit.*, 1921, 1 vol. petit in-8 de 500 pages avec figures.. **25** fr.

Précis de Médecine légale, par le Dr *BALTHAZARD*, professeur à la Faculté de médecine de Paris, membre de l'Académie de médecine. *3e édit.*, 1921, 1 vol. petit in-8 de 640 pages avec 2 planches coloriées et 139 figures..... **32** fr.

CINQUIÈME EXAMEN

CLINIQUES.

Précis des Maladies des Enfants, par le Dr *APERT*, médecin de l'hôpital des Enfants-Malades. Introduction sur l'exploration clinique dans la première enfance, par le Pr *MARFAN. 3e édit.*, 1920, 1 vol. petit in-8 de 550 pages avec 90 figures..... **16** fr.

Précis d'Ophtalmologie, par le Dr *TERRIEN*, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, ophtalmologiste des hôpitaux de Paris. Préface du Pr *DE LAPERSONNE. 2e édit.*, 1914, 1 vol. petit in-8 de 600 pages avec 320 fig. et 4 pl. col. **16** fr.

Précis de Laryngologie, Otologie, Rhinologie, Stomatologie, par le Dr *SÉBILEAU*, professeur à la Faculté de médecine de Paris, oto-rhino-laryngologiste de l'hôpital Lariboisière. 1 vol. petit in-8 de 500 pages avec figures.

Précis de Dermatologie et Syphiligraphie, par le Dr *JEANSELME*, professeur à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Saint-Louis, et le Dr *SÉZARY*, médecin des hôpitaux de Paris. 1 vol. petit in-8 de 500 pages avec figures.

Précis de Psychiatrie, par les Drs *DUPRÉ*, professeur à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'asile Sainte-Anne, et *Paul CAMUS*, médecin adjoint de l'hospice de Bicêtre. 1 vol. petit in-8 de 500 pages avec figures.

BIBLIOTHÈQUE DU DOCTORAT EN MÉDECINE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

A. GILBERT & L. FOURNIER

PRÉCIS

DE

BACTÉRIOLOGIE

★★

LISTE DES COLLABORATEURS

ACHARD	Professeur à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Beaujon, membre de l'Académie de médecine.
ALGLAVE	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien des hôpitaux de Paris.
APERT	Médecin de l'hôpital des Enfants-Malades.
BALTHAZARD	Professeur à la Faculté de médecine de Paris, membre de l'Académie de médecine.
BROCA (André)	Professeur à la Faculté de médecine de Paris, membre de l'Académie de médecine.
CAMUS (Jean)	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, médecin des hôpitaux.
CAMUS (Paul)	Médecin adjoint des Asiles et de Bicêtre.
CARNOT (P.)	Professeur de thérapeutique à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Beaujon.
CASTAIGNE	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital de la Charité.
CHABROL	Chef de clinique de la Faculté de médecine de Paris.
CLAUDE (H.)	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Saint-Antoine.
DESGREZ	Professeur à la Faculté de médecine de Paris, membre de l'Académie de médecine.
DESMAREST	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien des hôpitaux de Paris.
DOPTER	Professeur à l'Ecole du Val-de-Grâce, membre de l'Académie de médecine.
DUMONT	Interne des hôpitaux de Paris.
DUPRÉ	Professeur à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'asile Sainte-Anne, membre de l'Académie de médecine.
FABRE	Professeur à la Faculté de médecine de Lyon.
FAURE (J.-L.)	Professeur à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien de l'hôpital Broca.
GARNIER (M.)	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Lariboisière.
GILBERT	Professeur à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'Hôtel-Dieu, membre de l'Académie de médecine.
GRÉGOIRE	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien des hôpitaux de Paris.
GUIART	Professeur à la Faculté de médecine de Lyon.
JEANSELME	Professeur à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Saint-Louis, membre de l'Académie de médecine.
JOMIER	Chef de clinique à la Faculté de médecine de Paris.
JOSUÉ	Médecin de l'hôpital de la Pitié.
LECÈNE	Professeur à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien des hôpitaux de Paris.
LOEPER	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Tenon.
MACAIGNE	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Tenon.
MATHIEU	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien des hôpitaux de Paris.
OKINCZYC	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien des hôpitaux de Paris.
OMBRÉDANNE	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien de l'hôpital des Enfants-Malades.
PAILLARD	Ancien interne des hôpitaux de Paris.
PAISSEAU	Médecin des hôpitaux de Paris.
RATHERY	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Tenon.
RIBIERRE	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Tenon.
SACQUÉPÉE	Professeur à l'Ecole du Val-de-Grâce.
SAINT GIRONS	Chef de laboratoire à la Faculté de médecine de Paris.
SCHWARTZ (A.)	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien des hôpitaux de Paris.
SÉBILEAU	Professeur à la Faculté de médecine de Paris, oto-rhinolaryngologiste de l'hôpital Lariboisière.
SÉZARY	Médecin des hôpitaux de Paris.
SOULIÉ	Professeur à la Faculté de médecine de Toulouse.
TERRIEN	Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, ophtalmologiste de l'hôpital Beaujon.
WIDAL	Professeur à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Cochin, membre de l'Institut et de l'Académie de médecine.

BIBLIOTHÈQUE du DOCTORAT en MÉDECINE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

A. GILBERT & **L. FOURNIER**

Professeur à la Faculté de médecine de Paris,
Médecin de l'Hôtel-Dieu,
Membre de l'Académie de médecine.

Ancien Chef de clinique
de la Faculté,
Médecin de l'hôpital Cochin.

UNIVERSITY OF ILLINOIS
URBANA

PRÉCIS

DE

BACTÉRIOLOGIE

PAR

Ch. DOPTER et **SACQUÉPÉE**

PROFESSEURS AU VAL-DE-GRACE

DEUXIÈME ÉDITION, ENTIÈREMENT REVISÉE

★ ★

Avec 367 figures noires et coloriées.

PARIS
LIBRAIRIE J.-B. BAILLIÈRE ET FILS
19, RUE HAUTEFEUILLE, 19

1921

Tous droits réservés.

PRÉFACE

La somme des connaissances exigées aujourd'hui de l'étudiant en médecine pour l'obtention du titre de docteur est considérable ; elle s'accroît chaque jour du fait des progrès chaque jour accomplis dans le domaine médical. Aussi, de plus en plus, l'étudiant a-t-il besoin, à côté des cours oraux et des travaux pratiques qu'il trouve à l'école, de leur auxiliaire précieux et indispensable, le livre.

La nécessité, pour l'enseignement médical, d'ordonner, de condenser, de mettre au point les innombrables travaux de ces dernières années est la raison d'être du prodigieux essor de la librairie médicale actuelle, qui nous a donné, avec les gros traités de médecine, plusieurs collections très importantes.

Mais il n'existe pas, nous a-t-il semblé, une collection d'ouvrages correspondant au programme imposé aux étudiants en médecine. Certes, il n'est pas inutile aux jeunes de butiner dans le vaste champ des productions médicales et de faire eux-mêmes leur apprentissage dans l'art de choisir la meilleure nourriture intellectuelle ; mais encore faut-il qu'ils aient eu tout d'abord et qu'ils conservent toujours à leur disposition et à leur portée une alimentation rationnelle et choisie.

D'ailleurs, le temps qui leur est dévolu pour acquérir la somme des connaissances que l'on exige d'eux, — à juste

171527

raison du reste, — est relativement très peu considérable. En quelques années, ils passent de l'état de collégiens à l'état d'hommes appelés à jouer un rôle social considérable. Rien de ce qui peut leur faciliter cette transformation prodigieuse, rien en particulier de ce qui peut les doter plus vite des connaissances indispensables ne doit être négligé.

Voilà pourquoi nous avons entrepris de présenter à ceux qui se destinent à la profession médicale une collection d'ouvrages qui fussent comme le développement naturel des programmes imposés par la Faculté. Après avoir dressé le plan détaillé de la « Bibliothèque du Doctorat », nous nous sommes efforcés de trouver, pour chaque partie, le collaborateur le plus nettement désigné, celui qui, de l'aveu universel, parût le plus capable de mettre au point la somme des connaissances que doit posséder l'étudiant. Nous avons trouvé dans le corps enseignant de la Faculté de Paris la plupart de ces précieux collaborateurs déjà tout désignés, par leur enseignement oral même, pour assumer la tâche non moins méritoire et glorieuse de l'enseignement écrit. Nous tenons à les remercier bien vivement de l'aide qu'ils nous ont apportée dans l'accomplissement de l'œuvre entreprise ; grâce aux services qu'elle rendra certainement, ils auront contribué à soutenir l'antique renommée de l'École de Paris et à maintenir l'éclat de son enseignement.

La « Bibliothèque du Doctorat » comprendra trente volumes ; les étudiants en médecine y trouveront développées toutes les matières de leur programme. Pour les préparer aux difficultés de la clinique, nous avons insisté pour que les chapitres de sémiologie fussent suffisamment développés en médecine, en chirurgie, en obstétrique. Nous avons enfin attribué à quelques spécialités, ophtalmologie, oto-rhino-laryngologie, psychiatrie, une place relativement assez considérable, puisqu'un volume

tout entier a été consacré à chacune d'elles; mais l'importance croissante de ces spécialités, le fait qu'elles comportent soit des examens, soit des concours spéciaux, justifiaient, nous semble-t-il, une semblable détermination.

Nous ne saurions terminer cette préface sans remercier MM. J.-B. Baillière des efforts qu'ils ont faits pour que la « Bibliothèque du Doctorat » se présentât sous un aspect agréable, capable de satisfaire les bibliophiles les plus délicats, et pour qu'aucun reproche ne pût se justifier tant au point de vue de l'impression du texte que de la reproduction des figures.

A. Gilbert et L. Fournier.

CHAPITRE XXXI

BACILLE TYPHIQUE

Le Bacille typhique doit son nom à ce qu'il provoque chez l'homme la fièvre typhoïde. Il a été vu tout d'abord (1880) par Eberth (simple examen microscopique) dans les organes des

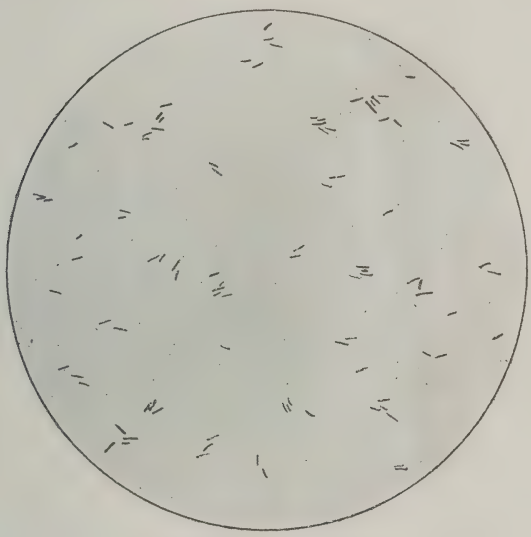


Fig. 199. — Bacille typhique. Culture sur gélose (vingt-quatre heures).

typhiques; aussi l'appelle-t-on souvent *Bacille d'Eberth*. A Gaffky revient le mérite d'avoir obtenu les premières cultures. Dans la suite, nombre d'auteurs, spécialement Chantemesse et Widal, H. Vincent, ont poursuivi son étude.

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — Dans l'organisme humain (rate surtout), le Bacille typhique est un bâtonnet, mesurant 2 à 3 μ sur 0 μ, 6 à 0 μ, 7, droit, à bouts arrondis.

En culture, son aspect est plus variable (fig. 199). C'est toujours un bâtonnet, à bouts arrondis, le plus souvent rectiligne, parfois un peu incurvé, plus effilé en bouillon, plus trapu sur gélose.

Dans les cultures jeunes, les bâtonnets sont presque toujours isolés, rarement bout à bout, par deux.

Des formes d'involution apparaissent dans certaines circonstances : aspect en navette (Artaud) avec espace clair central, sur culture âgée en bouillon ; formes filamenteuses dans les vieilles

Fig. 200. — Cils du Bacille typhique. Coloration par le procédé de Zettnov.

cultures sur gélatine et pomme de terre ; renflements terminaux, sur pomme de terre (acide) à 38° ou 40° (Chantemesse et Widal).

Quelques échantillons donnent beaucoup de formes filamenteuses, même en bouillon jeune.

Mobilité. — Le Bacille typhique est généralement très mobile ; on le voit traverser avec une extrême rapidité le champ du microscope. Sa motilité est due aux cils vibratiles. Exceptionnellement on peut rencontrer des échantillons peu mobiles ou même complètement immobiles.

Coloration. — Le Bacille typhique se colore facilement par les couleurs d'aniline. *Il ne prend pas le Gram.*

Cils. — Les cils sont nombreux, en moyenne neuf à douze, sou-

vent moins et souvent plus; insérés sur tout le pourtour, non ramifiés, ils sont flexueux, grêles et assez longs (souvent plus de 8 μ. Rémy et Sugg). Colorables par les méthodes habituelles (fig. 200).

Spores. — Le Bacille typhique ne donne pas de spores.

CULTURES.

Propriétés générales. — Anaérobie facultatif, le Bacille typhique se développe mieux en présence de l'air.

La température optima est 30° à 37°. Les limites extrêmes compatibles avec la culture sont + 4° et + 46°.

Il cultive sur les divers *milieux d'usage courant*.

En raison de ses analogies avec certains autres microbes, *B. coli* et Bacilles paratyphiques surtout, on est obligé d'employer pour le spécifier des milieux spéciaux (*milieux différentiels*).

D'autres milieux de culture (*milieux de recherche*) sont nécessaires pour la recherche du Bacille typhique dans le sang, les excréta, l'eau, etc.

Nous verrons successivement les trois catégories précédentes de milieux.

I. **Milieux d'usage courant. — Bouillon.** — A 37°, la culture devient perceptible vers la dixième ou douzième heure, pour être abondante après vingt à vingt-quatre heures. Le milieu est uniformément trouble; en agitant le liquide, on y provoque l'apparition d'*ondes moirées*, visibles surtout par transparence.

Plus tard, après plusieurs jours, apparaissent dans la masse des flocons blanchâtres qui se déposent au fond. Dans la suite, le liquide brunit, s'éclaircit et le dépôt augmente.

Jamais de voile net, mais parfois une légère collerette à la surface.

Pas d'odeur spéciale (quelques exceptions).

Eau peptonée. — Mêmes caractères qu'en bouillon.

Gélose inclinée. — La culture est abondante, mais peu caractéristique : en strie, traînée blanchâtre, parfois un peu irisée, d'aspect crémeux.

Sérum coagulé. — Comme sur gélose, moins abondante.

Gélatine. — Développement abondant, *sans liquéfaction du milieu*. Les caractères sont acquis après deux jours à 16°-22°.

Sur plaque. — Les *colonies superficielles* forment le plus souvent un disque de 3 à 4 millimètres, transparent, bleuté, très mince à la périphérie, plus épais au centre; le bord est irrégulier; la surface est vallonnée par des sillons irréguliers rayonnant à partir du centre; c'est l'aspect dit en *montagne de glace* (fig. 201). — Sinon

elles sont constituées par un simple disque blanchâtre, sans les détails de structure précédents. — Les *colonies profondes* sont plus petites, plus opaques, rondes ou ovalaires.

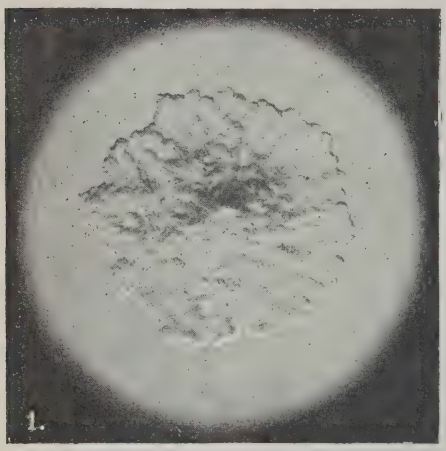


Fig. 201. — Bacille typhique, colonie isolée sur plaque de gélatine (d'après Macé).

En piqures. — A la surface, disque peu étendu, 3 à 5 millimètres, mince, tantôt transparent, tantôt un peu opaque. — Le long de la piqûre, colonies petites, arrondies ou ovalaires, opaques.

En strie. — D'ordinaire, la culture est transparente, à reflets irisés, très mince aux bords, un peu surélevée au centre. Parfois, simple trait blanc, opaque.

Pomme de terre. — Après quarante-huit heures, la culture est à peine visible ; en regardant attentivement, on voit une sorte de nappe incolore, brillante, donnant l'impression d'une *traînée de limaçon.*

Plus tard apparaît souvent une teinte légèrement brunâtre.

Quelques échantillons donnent d'emblée cette teinte brunâtre, avec une culture plus épaisse.

Naguère, avant la connaissance des milieux différentiels et des propriétés des sérums, on attachait aux cultures sur pomme de terre une importance de premier ordre pour la diagnose du Bacille typhique. En réalité, l'intensité et l'aspect de ces cultures varient beaucoup suivant les qualités du tubercule ; les variétés grasses sont les plus propices, ou bien les pommes de terre alcalinisées par le carbonate de soude (Buchner). Aussi, pour conserver à ce caractère la valeur qu'il mérite, est-il toujours nécessaire de procéder par comparaison avec un échantillon connu de Bacille typhique, ensemencé sur un autre fragment du même tubercule.

Lait. — La végétation est abondante, mais sans aucune modification appréciable du milieu ; *pas de coagulation.*

II. **Milieux de recherche.** — Voy. *Procédés de recherche du Bacille typhique* (p. 492).

III. **Milieux différentiels.** — Pour l'appréciation des résul-

tats donnés par cultures sur milieux différentiels, voir le tableau page 478 et 479, et la figure 213. Certains milieux d'usage courant (lait, pomme de terre) de même que les milieux de recherche donnent également des indications différentielles précieuses.

Milieux sucrés. — *a.* **Milieux lactosés.** — Il n'y a pas de fermentation apparente; il n'y a pas de dégagement gazeux; la réaction n'est pas changée ou devient très légèrement acide.

Bouillon lactosé carbonaté. — La culture est abondante, comme en bouillon ordinaire, mais on n'observe pas de dégagement gazeux.

Mêmes résultats sur *eau peptonée lactosée*, *gélose lactosée*, etc.

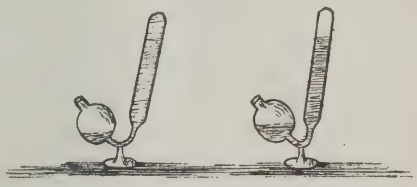
b. **Milieux glucosés.** — La réaction du milieu est modifiée, devient acide, mais il n'y a pas de dégagement gazeux appréciable.

Bouillon glucosé carbonaté. — Culture abondante sans dégagement gazeux (certains échantillons donnent pourtant quelques bulles).

Les résultats sont les mêmes en *eau peptonée glucosée carbonatée*, en *gélose glucosée*.

Eau peptonée glucosée en tube en U. — Le Bacille typhique ne donne *jamais* de gaz dans la branche anaérobie.

Le tube en U, ou tube à fermentation, comporte une branche aérobie et une branche anaérobie. On remplit comme l'indique la figure 202 (A), en veillant à ce qu'il ne persiste pas de bulles gazeuses au sommet de la branche anaérobie, avant l'ensemencement. Ce procédé est extrêmement sensible.



A B

Fig. 202. — Culture en eau peptonée glucosée en tube à fermentation (vingt-quatre heures).

A, Bacille typhique; B, Bacille paratyphique B.

Milieux glucosés tournesolés (bouillon, gélose, etc.). — Ces milieux virent nettement au rouge en vingt-quatre heures.

Milieu de Barsiekow glucosé. — Rougit en vingt-quatre heures; la coagulation a lieu en un à quatre jours.

Le milieu de Barsiekow comporte :

Sucre	1 gramme.
Nutrose	1 —
Chlorure de sodium	0gr,50
Teinture de tournesol	0cc,5
Eau distillée	Q. S. p. 100.

Au tube à fermentation, on peut substituer le dispositif suivant : Remplir de bouillon, à moitié hauteur, un grand et large tube, de diamètre de 22 millimètres au moins ; remplir d'autre part, du même bouillon, un petit tube (tube à hémolyse ou tube à agglutination). Renverser le petit tube orifice en bas, l'introduire tel quel dans le grand tube. Boucher le grand tube et stériliser. — Si, après ensemencement, le milieu dégage des bulles gazeuses, ces bulles viendront s'accumuler au fond du petit tube, en refoulant le liquide.

Lait tournesolé. — Le développement est abondant, mais la teinte ne varie pas sensiblement. Souvent un peu — très peu — plus rouge les premiers jours ; légèrement bleue dans la suite.

Petit-lait tournesolé. — Le développement est à peine appréciable. Les variations de teinte sont les mêmes que sur lait tournesolé, mais plus accusées.

Milieux au rouge neutre. — On utilisera de préférence une gélose faible, glucosée, au rouge neutre.

Gélose au rouge neutre. — Préparer la gélose ordinaire, en employant seulement 0,4 p. 100 de gélose, de manière que le milieu soit à peine solide. Le reste de la préparation, comme d'habitude. Ajouter à la fin 2 grammes de glucose par litre, et la quantité de rouge neutre juste suffisante pour teinter le milieu en rose très clair, soit environ 0cc,75 de la solution au centième pour 100 centimètres cubes. Répartir en tubes droits.

Sur ce milieu, le Bacille typhique ensemencé soit en piqûre, soit dans la gélose fondue (vers 45°), se développe sans aucune modification appréciable : *ni décoloration, ni fluorescence.*

Milieux vaccinés. — Le Bacille typhique est inapte à se développer à nouveau sur un milieu où il a été cultivé antérieurement (Chantemesse et Widal). On peut employer la gélose ou le bouillon.

Gélose vaccinée. — Ensemencer avec le bacille typhique une série de tubes de gélose inclinée; après quelques jours d'incubation, racler la culture.

Bouillon vacciné. — Ensemencer du bouillon ordinaire avec le Bacille typhique: filtrer après quinze jours à un mois ; recueillir le filtrat et répartir en tubes. On peut employer le bouillon Martin (chap. VII) fabriqué avec la pulpe de rate (Émery).

Ensemencé sur les milieux précédents, gélose ou bouillon, débarrassés des corps microbiens comme il vient d'être dit, le Bacille typhique *ne donne pas de culture appréciable.*

Milieux métalliques. — Sur gélose additionnée de *sous-acétate de plomb* (1 p. 500), la culture est *noire* (Sacquépée).

Pour préparer ce milieu : faire fondre un tube de gélose, 5 centimètres cubes; au milieu très chaud, ajouter 0cc,1 d'acétate de plomb en solution au dixième, mélanger; laisser refroidir, ensemencer avant solidification, vers 45°.

Variante. — Au milieu précédent, ajouter pour 10 centimètres cubes, IV gouttes de glucose à 30 p. 100. Le Bacille typhique noircit le milieu, sans donner de bulles gazeuses (Lévy et Pasteur-Vallery-Radot).

Artichaut. — Culture imperceptible. Pas de verdissement (Roger).

Bouillon arsenical. — Le Bacille typhique ne pousse pas dans un bouillon renfermant 0gr,02 d'acide arsénieux par litre (Thoinot et G. Brouardel).

Milieux minéraux. — Peu employés aujourd'hui, ils n'apportent au diagnostic aucun élément nouveau. En général, le Bacille typhique n'offre qu'un développement faible ou nul dans la plupart des milieux préconisés (milieux de Nægeli, de Frænkel, d'Ouchinsky, etc.).

Autres milieux colorés. — En dehors du rouge neutre, on a proposé un très grand nombre d'autres milieux colorés, dont l'usage ne s'est pas répandu. Citons ceux de Ramond et de Robin.

Milieu de Ramond. — Préparer de la gélose lactosée à 4 p. 100; ajouter de la rubine acide jusqu'à teinte rouge-cerise; additionner enfin de carbonate de soude, jusqu'à décoloration. Filtrer, répartir, etc.

La rubine se recolore sous l'influence des acides.

Sur ce milieu, le Bacille typhique pousse sans modifier la couleur.

Milieu de Robin. — Formule :

Gélose	32 grammes.
Peptone Collas	20 —
Phosphate de soude	0gr,40
Bleu soluble à 1 p. 100	4 cent. cubes.
Eau	1000 —
Potasse (solution décinormale)	140 —

Dissoudre le tout à 115°. Le milieu doit être gris, sinon on ajoutera un peu de potasse.

Ajouter 40 grammes de lactose. Terminer suivant la technique habituelle.

Le Bacille typhique se développe sur ce milieu sans modifier la teinte.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — En cultures, le Bacille typhique présente une assez grande vitalité ; les repiquages sont généralement fertiles avec des cultures de deux à quatre mois.

Le Bacille d'Eberth est peu résistant vis-à-vis de la *chaleur*. Un chauffage de vingt minutes à 60° (Pfuhl) ou d'une heure à 53° (Leishmann) le tue sûrement.

Il est moins sensible au *froid*. Si les alternatives de gel et de dégel lui sont funestes (Prudden), par contre il survit à une congélation maintenue pendant cent trois jours (Mitchell).

La *lumière solaire* lui est très nocive. Dans l'eau claire, l'insolation le tue au bout de quatre heures et demie à cinq heures, et après huit ou neuf heures dans l'eau trouble ; l'action bactéricide est exercée surtout par les rayons bleus, violets et ultra-violets (H. Vincent).

Il résiste pendant un à deux mois à la *dessiccation* sur la terre, le sable, etc. (Uffelmann).

Les *antiseptiques usuels* le tuent facilement : le sublimé au 1 000e en trente minutes (Frænkel), l'aldéhyde formique à 2 p. 1 000 en quinze à vingt minutes (Pottevin).

Résistance à certains agents chimiques. — Diverses substances modérément antiseptiques sont moins nocives pour le Bacille d'Eberth que pour la plupart des autres microbes : ainsi la caféine (Roth), le kristall-violet (Drigalsky et Conradi), le vert brillant et l'acide picrique (Conradi), la fuchsine décolorée par la sulfite de soude (Endo), l'iode (Elsner), le vert malachite (Lœffler), etc. Cette résistance relative est mise à profit dans les formules des milieux pour la recherche de l'espèce (Voy. p. 494 et suiv.).

Résistance dans les milieux naturels. — *Dans l'eau.* — Le Bacille typhique résiste longtemps dans l'eau ordinaire stérilisée ; on peut le retrouver vivant après trois mois (Chantemesse).

Mais sa résistance paraît moindre dans l'eau brute, non stérilisée, où il doit compter avec la concurrence de bactéries diverses On comprend que les résultats obtenus à ce sujet soient des plus variables suivant la composition chimique et bactériologique de l'eau en expérience : dans la plupart des observations, la survie ne dépasse pas quinze jours (Kraus, Hueppe, etc.). Certaines eaux sont moins défavorables, telle celle de la Tamise, où il persiste plus de vingt-cinq jours (Frankland et Applayard).

Dans le sol. — En pleine terre, le bacille typhique, très résistant, est encore vivant après cinq mois (Grancher et Deschamps).

Réactions biochimiques.

Action sur les sucres. — Ensemencé sur milieux glucosés, galactosés ou lévulosés, le Bacille typhique acidifie, sans provoquer de dégagement de gaz.

Il n'attaque pas du tout la lactose et la saccharose.

En réalité, le Bacille typhique fermente très nettement la glucose, de même que la lévulose, la maltose, la galactose, la mannite ; toutefois la fermen-

tation est peu active. Il y a production d'acides, mais sans dégagement gazeux. La production d'acides est mise en évidence très simplement par cultures sur milieux additionnés d'un sucre fermentescible (glucose, ect.) et, additionnés de tournesol : ces milieux virent au rouge en vingt-quatre heures. Mais on n'observe pas de dégagement gazeux appréciable, ni en bouillon carbonaté, ni en gélose profonde (piqûre), ni surtout dans les tubes à fermentation. Pour différencier le Bacille typhique de certains Bacilles voisins qui fermentent plus énergiquement la glucose (Bacilles paratyphiques surtout), il faut rechercher la fermentation gazeuse, que le Bacille typhique est inapte à provoquer, et non l'acidification des milieux, propriété qui lui est commune avec les microbes les plus rapprochés de lui.

Action dénitrifiante. — En bouillon additionné de nitrate de potasse (1,5 p. 100), le Bacille typhique provoque un dégagement d'azote (Hugounenecq et Doyon) Il dégage de même de l'azote aux dépens des nitrites (Grimbert).

L'action dénitrifiante est commune avec le Colibacille ; elle n'a pas de valeur différentielle.

Absence de production d'indol. — Le Bacille typhique ne produit pas d'indol.

Recherche de l'indol. — Les cultures seront faites en eau peptonée. On cherchera l'indol après deux jours de culture, à l'aide de l'une des réactions suivantes :

a. A 15 centimètres cubes de culture, ajouter d'abord XXX gouttes d'une solution de nitrite de potassium à 1 p. 1 000, puis X gouttes d'acide sulfurique chimiquement pur ; mélanger. S'il existe de l'indol, il apparaît une teinte rosée.

C'est la *réaction de Salkowsky.*

b. Procédé recommandé. — A 10 centimètres cubes de culture, ajouter volume égal d'une solution alcoolique de furfurol à 1 p. 50 ; puis, goutte à goutte, de l'acide chlorhydrique pur. La présence d'indol se traduit par une teinte jaune.

C'est la *réaction de Fleig et Sicre.*

Certaines peptones renferment des traces d'indol. Il est donc prudent de faire la même réaction sur un tube témoin, non ensemencé (Sicre).

Milieux vaccinés. — Voy. ci-dessus (p. 474).

Action des sels biliaires. — La bile et les sels biliaires (taurocholate de soude surtout), hostiles à la plupart des microbes, favorisent au contraire la culture du Bacille typhique, d'après Conradi, Dunschmann, etc. ; tout au moins ces substances ne gênent pas son développement.

Tableau indiquant les caractères essentiels d
du Bacille paratyphi

Caractères communs : Bacilles ou Coccobacilles, ne prenant pas le Gram
avec ondes moirées; poussent bien su

Caractères différentiels.	**Bacille typhique.**	**Bacille par**
Mobilité.	Très mobile; quelques exceptions.	Très mobile.
Cultivé sur pomme de terre.	Donne culture minime (Cf. *traînée de limaçon*).	Culture mini *typhique*).
Cultivé en lait.	Ne modifie pas le milieu.	Ne modifie pa
Cultivé en petit-lait tournesolé.	Rougit légèrement.	Rougit franch
Cultivé en milieux lactosés.	Ne donne pas de gaz.	Ne donne pas
Cultivé en milieux glucosés.	Ne donne pas de gaz.	Dégage des g
Cultivé sur milieux d'Endo ou de Drigalski.	Donne des colonies incolores.	Donne des co
Cultivé sur milieux au rouge neutre.	Ne modifie pas.	Provoque la la fluoresce
Cultivé sur milieux au plomb.	Noircit.	Ne noircit pa
Formation d'indol.	Ne donne pas d'indol.	Ne donne pas
A dose limite,		
un Eberth — sérum :	Agglutine.	N'agglutine p
un Para A — sérum :	N'agglutine pas.	Agglutine.
un Para B — sérum :	N'agglutine pas.	N'agglutine p

Bacille typhique, du Bacille paratyphique A, B et du Colibacille.

---

on sporulés; se développent en bouillon en donnant un trouble uniforme gélatine, sans la liquéfier.

phique A.	Bacille paratyphique B.	Colibacille.
	Très mobile.	Peu mobile, parfois immobile.
(Cf. *Bacille*	Enduit brun ou jaune, épais; exceptions.	Enduit brun ou jaune, épais.
e milieu.	Ne coagule pas; éclaircit tardivement.	Coagule, parfois tardivement.
ent.	Rougit très vite, puis bleuit (caméléonage).	Rougit très fortement.
gaz.	Ne donne pas de gaz.	Dégage des gaz.
	Dégage des gaz.	Dégage des gaz.
ies incolores.	Donne des colonies incolores.	Donne des colonies rouges.
coloration et .	Provoque la décoloration et la fluorescence.	Provoque la décoloration et la fluorescence.
	Noircit.	Ne noircit pas; quelques exceptions.
indol.	Donne peu (traces) ou pas d'indol.	Donne de l'indol.
	N'agglutine pas.	N'agglutine pas
	N'agglutine pas.	N'agglutine pas.
	Agglutine; exception : type Gärtner (p. 529).	N'agglutine pas.

Réactions à l'égard des sérums.

Agglutination. — Le Bacille typhique possède la propriété, très importante, d'être agglutiné par les sérums antityphiques, c'est-à-dire par les sérums provenant soit d'individus infectés par le Bacille typhique (malades atteints de fièvre typhoïde), soit d'individus vaccinés ou d'animaux inoculés avec ce Bacille.

Widal a montré que cette réaction apparaît au cours même de l'infection.

D'autre part, l'*agglutination du Bacille typhique est spécifique*. En effet, d'une part, un sérum antityphique n'agglutine pas, ou agglutine peu les espèces microbiennes autres que le Bacille typhique; d'autre part, et sauf de rares exceptions, les sérums autres que les sérums antityphiques n'ont pas d'action agglutinante appréciable sur le Bacille d'Eberth.

Ces diverses raisons permettent d'appliquer la *séro-réaction* au diagnostic de la fièvre typhoïde chez l'homme (Voy. p. 502) et également au diagnostic différentiel des espèces microbiennes.

I. **Spécificité de la réaction d'agglutination.** — *En ce qui concerne les maladies humaines*, les milliers d'observations accumulées depuis 1896 confirment les premières conclusions de Widal : l'existence de propriétés agglutinantes dans le sérum sanguin indique une infection de l'organisme par le Bacille typhique; l'infection est le plus souvent *actuelle*, mais elle peut remonter à une époque antérieure plus ou moins éloignée.

Il va sans dire que cette proposition est exclusivement applicable aux réactions faites correctement, suivant les techniques indiquées plus loin.

Le fait de rencontrer des sérums agglutinants en dehors de la fièvre typhoïde, spécialement dans certains ictères, avait tout d'abord fait mettre en doute la spécificité de la réaction; mais d'autres méthodes ont établi depuis que ces ictères sont en réalité d'origine typhique (Sacquépée et Fras).

Quelques exceptions sont actuellement connues : le sérum de malades atteints d'empoisonnements alimentaires, spécialement par le Bacille de Gärtner, peut agglutiner assez fortement le Bacille typhique (en même temps que le Bacille infectant). Mais l'allure clinique très particulière de ces accidents ne prête pas à confusion avec la fièvre typhoïde. On peut de même observer au cours de la granulie une agglutination peu intense (1 p. 60) à l'égard du Bacille d'Eberth.

Enfin, le Bacille typhique est parfois agglutiné par le sérum de malades atteints d'infections paratyphoïdes A ou B : ces faits seront discutés plus loin.

En ce qui concerne les sérums expérimentaux, obtenus par inoculation à l'animal de cultures microbiennes, il est établi que :

Les sérums antityphiques agglutinent les Bacilles typhiques, tous sensiblement au même taux (sauf exception), sans exercer d'action bien appréciable sur les espèces les plus voisines.

Inversement, les sérums spécifiques pour les espèces les plus voisines, comme les Bacilles paratyphiques, n'ont que peu ou pas de pouvoir agglutinant à l'égard du Bacille d'Eberth.

Au point de vue clinique, comme au point de vue expérimental, la réaction d'agglutination des sérums antityphiques à l'égard du Bacille typhique doit donc être considérée comme spécifique.

II. **Aptitude agglutinative du Bacille d'Eberth.** — La grande majorité des Bacilles typhiques sont agglutinables au même degré par un même sérum spécifique.

Mais toute règle comporte des exceptions. De rares Bacilles typhiques, spécialement parmi ceux qui viennent d'être isolés de l'organisme humain ou des eaux typhogènes, tout en possédant par ailleurs l'ensemble des attributs de l'espèce, ne se laissent pas agglutiner par les sérums spécifiques (Sacquépée, Rodet, J. Courmont, etc.). L'aptitude agglutinative réapparaît dans la suite, après un nombre variable de repiquages sur milieux artificiels.

Il semble y avoir quelque parallélisme entre le défaut d'aptitude agglutinative et l'absence de mobilité, comme l'ont indiqué Ch. Nicolle et Trénel.

Il est bon de connaître l'existence de ces échantillons peu ou pas agglutinables : en premier lieu, pour les rejeter quand on veut pratiquer un sérodiagnostic ; en deuxième lieu, pour ne pas se hâter de considérer comme étranger à l'espèce Bacille typhique un microbe qui par ailleurs présente les caractères de cette espèce. En pareil cas, il faut attendre, faire des repiquages, et s'adresser à d'autres moyens de vérification (déviation du complément en particulier).

III. **La substance agglutinante chez l'homme.** — *a.* A l'état normal, le sérum sanguin de l'homme ne possède pas de pouvoir agglutinant au delà de 1 p. 10 ou 1 p. 20.

A l'état pathologique, le pouvoir agglutinant apparaît au cours des infections diverses provoquées par le Bacille typhique : en premier lieu, la fièvre typhoïde classique ; puis, les formes anormales de cette dernière : embarras gastrique fébrile, méningo-typhus, etc. ; enfin dans les ictères provoqués par le Bacille typhique.

Chez l'homme, expérimentalement, le pouvoir agglutinant apparaît après la vaccination antityphique .

b. Il est nécessaire de suivre un peu l'*évolution* du pouvoir agglutinant au cours de la fièvre typhoïde.

Dans cette maladie, le sérum acquiert presque toujours des propriétés spécifiques. Elles sont d'ordinaire nettement développées aux environs du sixième jour, un peu plus tôt ou un peu plus tard; persistent pendant toute la durée de l'infection; diminuent ensuite, pour disparaître dans les premières semaines de la convalescence.

A cette évolution habituelle il y a quelques exceptions :

Le pouvoir agglutinant peut faire défaut (1 fois sur 177 observations de Widal); il peut être retardé, ce qui est moins exceptionnel, et n'apparaître que dans la deuxième ou la troisième semaine; il peut persister pendant longtemps, trois ans et même sept ans après la guérison (Widal).

c. Outre le sérum sanguin, d'autres sérosités peuvent être douées du pouvoir agglutinant. Ainsi on l'a constaté dans le lait d'une nourrice typhique (Achard et Bensaude), dans l'urine, dans les larmes, dans l'exsudat pleural.

Il peut se transmettre de la mère au fœtus.

IV. **Application au diagnostic du Bacille d'Eberth.** — Malgré les exceptions signalées plus haut (Bacilles peu ou pas agglutinables), la réaction à l'égard des sérums spécifiques constitue un des meilleurs critériums de l'espèce. On ne doit jamais identifier un Bacille typhique sans l'avoir soumis au préalable à l'épreuve du sérum.

On emploie de préférence dans ce but des sérums expérimentaux d'intensité moyenne, 1 p. 1000 à 1 p. 10000. Plus faibles, ils ont parfois une action relativement marquée (coagglutination) sur d'autres espèces; l'usage de sérums plus forts n'a aucun intérêt.

Le Bacille présentant par ailleurs tous les attributs nécessaires, on procédera à la recherche du taux limite d'agglutination, comparativement avec d'autres échantillons connus de Bacille typhique.

Si le microbe à l'étude est agglutiné par le sérum spécifique sensiblement au même taux que les témoins, on conclura : Bacille typhique. Au cas contraire, on procédera comme il a été déjà indiqué ci-dessus, II.

V. **Préparation de sérums expérimentaux agglutinants.** — Entre autres procédés, nous recommandons le suivant : émulsionner dans 10 centimètres cubes d'eau physiologique une culture de vingt-quatre ou quarante-huit heures sur gélose inclinée; stériliser par chauffage à 60° pendant une demi-heure ou par agitation avec de l'éther, en maintenant le contact pendant douze heures, et décantant ensuite. Éliminer les amas microbiens (filtration sur papier, ou centrifugation rapide, ou sédimen-

tation pendant quelques heures). Inoculer 1 à 1cc,5 d'émulsion dans les veines du lapin.

Saigner au septième jour. Le sérum obtenu agglutine généralement au delà de 1 p. 300.

Pour préparer des sérums très forts, pratiquer trois ou quatre injections à doses croissantes, à intervalles de huit jours. Inoculer ensuite 1 centimètre cube d'émulsion de bacilles vivants ; saigner au septième jour après la dernière injection.

Sensibilisatrice. — Widal et Le Sourd ont appliqué au Bacille typhique la méthode de la déviation du complément, suivant la technique habituelle. Les résultats obtenus indiquent en général l'existence d'une sensibilisatrice spécifique dans le sérum des typhiques. La méthode est assez fidèle pour servir au diagnostic.

La déviation du complément est un appoint très utile quand le sérodiagnostic est peu net ou faible.

Elle peut être positive chez d'anciens malades porteurs de Bacilles (Schöne).

La sensibilisatrice spécifique existe de même dans les sérums expérimentaux.

Précipitines. — Les précipitines existent dans les sérums spécifiques (Kraus).

Opsonines. — Un indice opsonique supérieur à 1,70 constitue une présomption en faveur du diagnostic de fièvre typhoïde (Milhit). L'indice est souvent élevé chez les anciens malades porteurs de bacilles (Gæthgens).

POUVOIR PATHOGÈNE.

Le Bacille typhique peut se montrer pathogène : 1° pour l'homme, dans les conditions naturelles ; 2° pour l'animal, expérimentalement.

Action pathogène dans les conditions naturelles, chez l'homme. — Le Bacille typhique est l'agent constant de la fièvre typhoïde.

Il provoque non seulement la fièvre typhoïde classique, mais encore les complications habituelles de cette dernière et les formes anormales. Complications : ostéite, bronchopneumonie, abcès, etc. Formes anormales : méningo-typhus, pneumo-typhus, fièvre typhoïde sans lésions intestinales, etc.

Au même titre que d'autres germes, il peut provoquer l'embarras gastrique fébrile et des ictères essentiels.

Chez l'animal, on ne connaît aucune maladie provoquée par le Bacille typhique.

Action pathogène expérimentale. — Expérimentalement, le pouvoir pathogène peut être mis en évidence par inoculation; mais c'est seulement par ingestion qu'on a pu réaliser chez l'animal une maladie rappelant la fièvre typhoïde humaine.

Inoculations. — On utilise surtout la *souris* et le *cobaye*.

A. Le **virus habituel,** tel qu'on l'extrait des organes des typhoïdiques, est généralement peu actif.

Injecté *dans le péritoine* à dose forte (0cc,5), il provoque une péritonite mortelle.

L'injection *sous-cutanée* donne lieu soit à un simple abcès (G. Roux, Gasser, Chantemesse et Widal), fait intéressant en ce qu'il montre l'aptitude pyogène du Bacille chez l'animal (comme dans certaines ostéites ou certains abcès chez l'homme); soit à une infection qui tue en un ou quelques jours, par intoxication, sans pullulation appréciable des microbes et sans lésions apparentes.

L'inoculation *intracérébrale* d'une culture de quinze jours tue le cobaye et le lapin à dose de 1/10 ou 1/20 de centimètre cube (H. Vincent).

B. Le **virus exalté** permet de réaliser une infection généralisée avec septicémie.

1° Exaltation de la virulence. — Plusieurs procédés sont applicables :

a. Chantemesse et Widal utilisent la constatation, faite par H. Vincent, que l'action concomitante du Streptocoque pyogène exalte la virulence du Bacille typhique. Ils inoculent en même temps sous la peau 4 centimètres cubes de culture de Bacille typhique, et dans le péritoine 8 ou 10 centimètres cubes de culture de Streptocoque stérilisée par la chaleur. L'animal succombe le plus souvent en moins de vingt-quatre heures, présentant une infection généralisée (Bacilles dans le sang, le péritoine, etc.). — Avec la culture obtenue de ce premier animal, on inocule un deuxième animal : 4 centimètres cubes de Bacille typhique sous la peau, 5 centimètres cubes de culture stérilisée de Streptocoque dans le péritoine. On continue ainsi, en diminuant peu à peu la dose adjuvante de Streptocoque tué. Finalement on obtient un virus très actif, capable de tuer le cobaye à dose de 3 centimètres cubes sous la peau, ou de quelques gouttes dans le péritoine.

b. Sanarelli emploie une technique analogue. Partant d'une culture de laboratoire tout à fait avirulente, il en injecte sous la peau du cobaye 0cc,5 ; en même temps, il inocule dans le péritoine 10 à 12 centimètres cubes d'une culture vieille et stérilisée de Colibacille. L'animal meurt en quatorze à vingt heures, présentant un exsudat péritonéal riche en Bacilles typhiques (parfois aussi des Bacilles dans la rate et le sang). On ensemence en bouillon la sérosité

péritonéale; de cette culture de premier passage, on inocule 5 centimètres cubes sous la peau, et en même temps dans le péritoine 7 à 8 centimètres cubes de culture stérilisée de Colibacille. L'animal meurt, comme le premier. On continue ainsi les passages, en diminuant chaque fois la dose de Colibacille, jusqu'à ce que finalement on obtienne un Bacille suffisamment exalté pour tuer, sans aucun adjuvant, par injection intrapéritonéale (quelques gouttes) ou sous la peau (3 à 4 centimètres cubes).

Sanarelli a réussi de même en substituant au Colibacille des cultures stérilisées de *Proteus vulgaris* ou des selles filtrées et stérilisées.

c. Le simple passage de péritoine à péritoine exalte également la virulence. Après le premier passage, on inoculera la sérosité péritonéale elle-même (non la culture qui en provient).

d. Chantemesse et Balthazard ont recours aux cultures successives en sacs de collodion, placés dans le péritoine du cobaye.

e. Ces virus exaltés perdent rapidement leur virulence dans les cultures *in vitro*. Pour la conserver plus longtemps, Rodet et Lagriffoul conseillent de faire les cultures en bouillon alcalin, additionné de sang de cobaye au moment de l'usage.

2° Inoculation du virus exalté. — L'animal de choix est le *cobaye*.

En inoculant dans le péritoine quelques gouttes d'une culture du virus exalté, les symptômes se succèdent dans l'ordre suivant : deux à quatre heures après l'inoculation, la température s'élève à 40° et 41°; l'animal est abattu. Puis, entre la sixième et la douzième heure, la température descend peu à peu, jusqu'à 34° et même 32° (hypothermie); à ce moment, l'animal est immobile, pelotonné sur lui-même; l'abdomen est devenu très sensible, et la moindre pression provoque des cris. Mort en un temps variable, douze à vingt-quatre heures si la virulence est suffisante.

A l'autopsie, sérosité louche dans le péritoine; congestion des viscères et de l'intestin; contenu intestinal diarrhéique; tuméfaction des follicules clos et des plaques de Peyer. Bacilles typhiques dans la sérosité péritonéale, dans le sang et dans les organes.

Reproduction expérimentale de la fièvre typhoïde par ingestion. — L'ingestion a réussi jusqu'ici chez le singe et le lapin.

Singe. — Chantemesse et Ramond, expérimentant sur le singe macaque, soumettent d'abord l'animal au régime lacté pendant quinze jours. Ils font ingérer ensuite le Bacille typhique (produit d'une culture sur gélose) mélangé à de la confiture. Au troisième jour, fièvre, anorexie, diarrhée; dans la suite, fièvre persistante, mauvais état général. Mort au huitième jour. A l'autopsie, lésions caractéristiques (en particulier, ulcérations des plaques de Peyer).

La sensibilité du singe est confirmée par Grünbaum (chimpanzé), Weinberg, Metchnikoff et Besredka.

Lapin. — Remlinger a pu infecter quelques animaux en leur faisant ingérer des légumes largement arrosés de culture. Chantemesse et Ramond diminuent la résistance de l'animal en injectant d'abord dans le péritoine L gouttes de laudanum ; un quart d'heure après, à l'aide de la sonde, on porte dans l'estomac 3 à 5 centimètres cubes de culture typhique. Les mêmes auteurs rendent le lapin encore plus sensible en « l'humanisant » au préalable par injection quotidienne de sérum ou d'urine humains pendant vingt jours. Dans ces divers essais, les animaux ont présenté les symptômes essentiels et les lésions les plus caractéristiques de la fièvre typhoïde humaine.

Inoculation intradigestive. — Lépine et Lyonnet, ayant inoculé le Bacille typhique dans une anse intestinale isolée (procédé de Thiry), ont reproduit des ulcérations localisées à l'anse infectée.

TOXINES.

Cliniquement, il paraît manifeste que la fièvre typhoïde est le résultat d'une intoxication subaiguë ; on doit donc admettre que le Bacille typhique sécrète une toxine.

On a beaucoup cherché cette toxine ; on a présenté sous le nom de « toxine typhique » des poisons de nature complexe, ne présentant pas les caractères essentiels des vraies toxines.

Certains auteurs s'adressent aux cultures en milieux liquides, dont ils séparent une toxine soluble ; d'autres utilisent les corps microbiens, débarrassés de leur substratum nourricier.

A. **Toxines solubles.** — Les premiers essais de Brieger, de Brieger et Fränkel, etc., ne réussirent à isoler sous le nom de « toxalbumine » qu'une impureté des milieux.

Toxine de Sanarelli. — Le virus exalté (p. 484) est cultivé en bouillon glycériné à 2 p. 100 pendant un mois à 37° ; on tue alors les microbes par chauffage ; les cultures sont abandonnées pendant huit mois à la température ambiante, après quoi les ballons sont scellés et portés quelques jours à 60°. On laisse déposer les corps microbiens ; le liquide clair surnageant constitue la toxine.

Ces manipulations ont pour but de permettre une macération prononcée, de façon à libérer les poisons intramicrobiens.

Action pathogène. — La toxine de Sanarelli, mélange de poisons solubles, de poisons intramicrobiens, auxquels s'ajoutent (Gautier et Balthazard) les substances provenant des albuminoïdes altérées du milieu, n'est pas très pathogène.

Doses mortelles, sous la peau ; pour le cobaye, 1cc,5 par 100 grammes du poids du corps; pour le lapin, 10 centimètres cubes par kilogramme ; pour la souris, 1 centimètre cube.

C'est chez le cobaye que les symptômes et les lésions se présentent avec le plus de netteté. A la suite de l'inoculation dans le péritoine d'une dose sûrement mortelle, l'hypothermie apparaît d'emblée et s'accentue dans la suite ; après une heure, météorisation abdominale avec sensibilité du ventre, hyperesthésie généralisée ; après quatre à cinq heures, prostration avec tremblement. Plus tard, dyspnée et mort en asphyxie.

A l'autopsie : exsudat péritonéal abondant, avec nombreux globules blancs, flocons fibrino-purulents; rate friable, hypertrophiée ; congestion de l'intestin, des capsules surrénales, de l'utérus; congestion et infiltration des follicules lymphatiques de l'intestin. Dans le contenu diarrhéique de l'intestin, *Bacterium coli* très abondant (plus que normalement) et virulent.

Toxine de Chantemesse. — Un virus exalté est ensemencé sur milieux spéciaux : au début, le milieu était un mélange de macération à froid de rate et de moelle osseuse avec du sang humain; plus tard, Chantemesse s'est adressé à la peptone de rate (préparée suivant le procédé de L. Martin,). Les cultures sont faites à 37°, en large surface ; la toxicité est au maximum du quatrième au sixième jour ; elle diminue ensuite. On stérilise par chauffage vers le sixième jour, on centrifuge : le liquide décanté constitue la toxine.

La toxine de Chantemesse est fragile ; elle craint la lumière et l'oxygène de l'air ; l'acide tartrique la rend inoffensive, mais l'addition ultérieure de soude lui rend ses propriétés toxiques ; elle résiste une heure à + 58°, et le chauffage à 100° l'atténue, sans la détruire.

Assez active, la toxine de Chantemesse tue le cobaye à la dose de 1 centimètre cube par 80 grammes du poids du corps, en douze à vingt-quatre heures (injection intrapéritonéale). La souris, le cheval sont proportionnellement plus sensibles que le cobaye.

Toxine de Rodet, Lagriffoul et Wahly ; toxine de M. et Mme Al. Werner. — D'après ces auteurs, l'oxygène exerce sur la toxicité des cultures une influence contradictoire : la toxine soluble n'est élaborée qu'en milieux largement aérés ; mais, d'autre part, elle s'altère au contact de l'oxygène. Elle est en outre très sensible à la chaleur, même modérée.

Pour obtenir leur toxine, Rodet, Lagriffoul et Wahly ensemencent en bouillon, en faisant barboter de l'air dans le milieu ; on filtre au troisième jour. Le filtrat est peu toxique : dose mortelle dans le péritoine, 4 p. 100 du poids du corps.

M. et Mme Werner cultivent en eau peptonisée, légèrement alcaline ; pendant les deux ou trois premiers jours, le milieu est aéré par barbotage d'air, à 37° ou à 25° (période d'oxydation) ; les deux jours suivants, on maintient à 2,° en ballons scellés (période d'asphyxie). On filtre ensuite. La toxine ainsi obtenue est assez active : les doses mortelles sont de 1 centimètre cube pour un cobaye de 300 grammes (dans le péritoine), 2 centimètres cubes pour un lapin de 1 800 à 2 000 grammes (injection intraveineuse).

Toxine de Moreschi. — Le milieu employé par Moreschi est du bouillon (de viande et de rate) peptonisé et salé, additionné de 8 p. 100 de sang de bœuf et de 1 p. 100 de plasmon, et alcalinisé.

En repiquant le Bacille de jour en jour, la culture, d'abord homogène, se fait ensuite exclusivement en surface (voile, sans trouble du milieu). C'est à ce moment que la toxine s'élabore.

On ensemence le Bacille ainsi adapté ; on filtre au sixième jour.

Le filtrat est toxique ; il tue le cobaye, par injection intrapéritonéale, à la dose de 0cc,2.

Toxine de Shaw. — Ensemencer dans le sang défibriné, filtrer après trois semaines.

Toxine de H. Vincent. — Le Bacille typhique est cultivé en série en sacs de collodion, dans le péritoine (cobaye ou lapin). L'activité du virus s'accroît à partir du troisième ou quatrième passage. Après un certain nombre de passages, le liquide du sac est centrifugé, et le liquide surnageant, après stérilisation par l'éther, est inoculé aux animaux ; ce liquide, toxique, tue la souris en vingt-quatre heures à la dose de 3 à 5 gouttes, et le cobaye par voie péritonéale, en trente heures, à dose de 15 à 20 gouttes. Transporté ensuite en milieux usuels et mis à l'étuve, le Bacille perd rapidement une partie de son activité ; on ne peut donc obtenir un virus de toxicité fixe en dehors de l'organisme.

B. **Toxines des corps microbiens.** — On a supposé que la vraie toxine typhique est adhérente au corps microbien et ne diffuse que peu ou pas dans les milieux. Divers procédés ont été mis en œuvre pour obtenir cette toxine intraprotoplasmique, ou *endotoxine*.

Toxine de Conradi. — C'est un autolysat de bacilles. Une culture sur gélose est raclée, émulsionnée dans l'eau physiologique, abandonnée à 37° pendant vingt-quatre heures, puis filtrée ; le filtrat est concentré par évaporation dans le vide jusqu'à 1 p. 10 ou 1 p. 50.

Le filtrat concentré, très toxique, tuerait le cobaye à la dose de 0cc,2 (injection intrapéritonéale).

Toxine de Mac Fadyen et Rowland. — Le produit de raclage de cultures sur gélose est congelé et broyé dans un appareil à congélation par l'air liquide (— 190°) ; on mélange la pâte obtenue avec un peu d'eau physiologique ; on broie à nouveau et on centrifuge. Il ne persiste pas de bacilles vivants. Le liquide surnageant constitue un véritable « jus de cellules ». Il tue le cobaye à la dose de 0cc,1 (dans le péritoine).

Toxine de Balthazard. — On part d'un virus exalté par passages en sacs de collodion. La culture est faite sur peptone Defresne (solution à 3 p. 100) gélosée, sans addition de viande. On racle et on émulsionne dans l'eau physiologique après un ou deux jours d'étuve ; l'émulsion est centrifugée, puis décantée ; on additionne le culot d'eau physiologique, et on centrifuge une dernière fois ; on décante, ne laissant que le culot de bacilles. Ces diverses opérations lavent complètement les corps microbiens.

Pour donner issue aux toxines intracellulaires, on s'efforce de rompre le corps bacillaire par des moyens physiques. Les bacilles lavés sont délayés dans une solution hypotonique, qui doit les gonfler et les faire éclater : urée à 2 p. 100 ou chlorhydrate d'ammoniaque à 1 p. 100. Puis les microbes sont soumis à des alternatives de congélation et de dégel : répartis en tubes scellés, ils sont congelés tous les jours pendant deux heures (appareil utilisant l'évaporation du chlorure de méthyle), et placés le reste du temps dans une étuve à + 58°. Après huit jours de ce traitement, on centrifuge ; le liquide surnageant est la toxine.

Cette toxine, assez active, tue le cobaye à la dose de 1 centimètre cube pour 100 grammes de poids, sous la peau.

Endotoxine de Besredka. — Les cultures de seize à dix-huit heures sur gélose sont délayées dans l'eau physiologique, stérilisées par chauffage à 60° pendant une heure, et desséchées dans le vide. On mélange 1 gramme de la poudre microbienne obtenue avec 0gr,30 de chlorure de sodium sec ; on triture pendant une heure ; on ajoute ensuite, en continuant à triturer, 1 à 2 centimètres cubes d'eau distillée ; les Bacilles s'agglutinent. On additionne alors d'eau distillée en quantité suffisante pour ramener la solution à 0,75 p. 100 de chlorure de sodium ; après vingt-quatre heures de repos, le mélange est porté deux heures à 60° ; on laisse reposer à nouveau douze heures ; on décante enfin le liquide, qui renferme l'endotoxine.

L'endotoxine de Besredka coagule par chauffage prolongé à 65° et au delà. Elle est toxique pour le cobaye, le lapin, le cheval ; la la dose mortelle pour le cobaye est 1cc,5 (dans le péritoine).

Typholysine. — Les cultures en bouillon un peu âgées renferment une hémolysine, étudiée par E. et P. Lévy et par Rodet. Cette typholysine apparaît seulement après quatre à six jours de culture, pour être au maximum vers le quinzième jour. Le filtrat est hémolytique au même titre que la culture. La typholysine dissout les hématies de chien, de cheval, de cobaye. Elle n'est pas détruite par chauffage à 56°. Chez le chien inoculé avec des filtrats hémolysants, le sérum acquiert des propriétés antihémolytiques.

SIÈGE. — HABITAT.

Le Bacille typhique peut être rencontré : 1° chez l'homme ; 2° dans les milieux extérieurs.

Bacille typhique chez l'homme. — A. **Au cours de la fièvre typhoïde.** — Agent de la fièvre typhoïde, le Bacille d'Eberth se rencontre chez l'homme pendant toute la durée de la maladie.

Contrairement à ce qu'on pensait naguère, tout le monde accepte

aujourd'hui que l'infection typhoïde est le résultat d'une véritable septicémie, avec localisation élective sur certains organes.

Aussi rencontre-t-on le Bacille d'Eberth dans le sang d'une manière à peu près constante (Castellani, Busquet, Courmont, Widal, Sacquépée et Perquis, Ruediger, etc.), en faisant usage de procédés de culture appropriés (Voy. *Hémoculture*). Les exceptions à cette règle sont infiniment rares, tellement rares que l'hémoculture constitue notre meilleur procédé de diagnostic. Le Bacille est présent

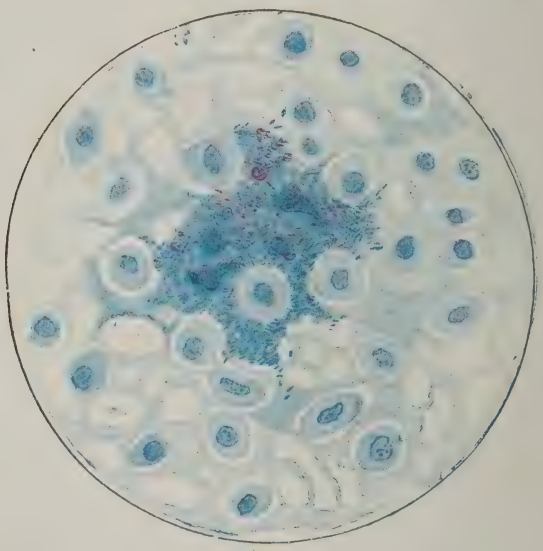


Fig. 203. — Rate typhoïde. Amas de Bacilles typhiques.

dans le sang dès les premiers jours; il a été signalé au deuxième jour; il persiste ensuite pendant toute la période d'état, pour disparaître vers la troisième semaine le plus souvent; mais on le rencontre parfois encore plus tard, même pendant la convalescence (Lesieur).

Le sang étant répandu dans tous les organes, on peut trouver le Bacille d'Eberth, amené par le sang, dans tous les points de l'organisme. Mais il se localise et se multiplie de préférence dans la rate, les voies biliaires et le foie, la moelle osseuse, les ganglions mésentériques. A l'autopsie, on le rencontre le plus fréquemment dans le sang, les voies biliaires et la rate: cette dernière est parsemée d'amas considérables de bacilles (fig. 203).

Au niveau des taches rosées, on trouve également le Bacille d'Eberth en abondance (Neuhauss).

Le Bacille typhique s'élimine par les excreta les plus importants; outre la bile, il faut citer à ce point de vue l'intestin et l'urine.

Dans l'intestin, on peut trouver le Bacille dès les premiers jours de maladie (Rémy et même plusieurs jours avant l'apparition des tout premiers symptômes (Simon). Il devient ensuite plus abondant, pour disparaître le plus souvent pendant la convalescence; mais on peut le retrouver beaucoup plus tard (Voy. ci-dessous). Il est inégalement réparti dans le tube digestif : sur 8 autopsies, Forster et Kayser le rencontrent 6 fois dans le haut du jéjunum 5 fois à la terminaison du grêle, à 10 centimètres de la valvule ; 2 fois dans le côlon descendant, d'autant moins souvent qu'on s'éloigne plus des voies biliaires.

Le Bacille passe assez souvent dans l'urine (Bouchard), dans un cinquième des cas environ (H. Vincent), qu'il existe ou non des troubles urinaires.

La plupart des complications habituelles de la fièvre typhoïde sont ou peuvent être l'œuvre du Bacille typhique : c'est ainsi qu'on le trouve dans les ostéites, les pleurésies, les pneumonies, le laryngo-typhus, les angines, les péricardites, les abcès, etc.

B. **Persistance chez les typhiques guéris.** — Le Bacille peut persister quelque temps dans les excreta des typhiques guéris ; le plus souvent dans l'intestin, parfois dans les urines.

Sa persistance dans l'intestin est généralement due à une lésion chronique des voies biliaires (cholécystite), lésion qui est souvent bien tolérée et passe inaperçue de là, le Bacille est évacué dans l'intestin.

Les sujets qui éliminent ainsi des Bacilles sont dits *porteurs de Bacilles*.

L'élimination des Bacilles chez les malades guéris peut cesser moins de trois mois après le début de l'affection (*porteurs convalescents*) ou persister au delà de trois mois (*porteurs chroniques*).

Le nombre des porteurs chroniques peut être estimé en moyenne à 4 ou 5 p. 100. L'élimination de Bacilles est généralement intermittente. On l'a vue persister pendant quatre ans (Conradi).

C. **Présence chez les sujets sains.** — Le Bacille typhique a été signalé chez des sujets sains par Remlinger et Schneider. D'après Rémy et Minelli, on le trouverait seulement chez les personnes en contact avec des malades. Il est certain que le fait est en tout cas exceptionnel.

Bacille typhique dans les milieux extérieurs. — Le Bacille d'Eberth, issu de l'organisme malade, peut contaminer les milieux extérieurs. Si les circonstances s'y prêtent, ces milieux pourront devenir typhogènes.

On sait le rôle considérable attribué à juste titre à l'*eau de boisson* dans la genèse de la fièvre typhoïde : à maintes reprises on a pu déceler le Bacille typhique dans les eaux suspectes.

Le lait (nombreuses épidémies), les huîtres, les légumes, les fruits

à ras de terre, etc., peuvent de même se trouver contaminés par les excreta.

On a également constaté quelquefois la présence du Bacille d'Eberth dans de la terre, des poussières, des engrais desséchés, accusés d'avoir provoqué des épidémies de fièvre typhoïde.

PROCÉDÉS DE RECHERCHE DU BACILLE TYPHIQUE.

Nous envisagerons successivement la recherche dans les selles, puis dans l'eau. *Les procédés indiqués pour le Bacille typhique seront également utilisés pour la recherche des Bacilles paratyphiques.*

Recherche du Bacille typhique dans les selles. — La recherche du Bacille typhique dans les fèces se heurte à de sérieuses difficultés provenant de la présence constante de germes très nombreux, particulièrement du Colibacille ; les deux microbes, en effet, présentent sensiblement les mêmes caractères généraux de culture sur les milieux habituels, et d'autre part le Colibacille est plus résistant que le Bacille typhique à l'égard de presque tous les agents physiques ou chimiques. En outre, la présence du Colibacille dans les cultures gêne à un tel point le développement du Bacille d'Eberth qu'on avait même pensé, à un moment donné, qu'il l'étouffait complètement ; cette conception était d'ailleurs inexacte.

1° On peut s'opposer au développement de la plupart des microbes intestinaux en additionnant les milieux de certaines substances, à doses telles qu'elles soient antiseptiques pour ces microbes sans gêner la culture du Bacille typhique. Parmi ces substances, la plupart, acide phénique (Chantemesse), kristall-violet (Drigalski-Conradi), fuchsine (Endo) ou fuchsine acide (Kindborg), laissent se développer librement le Colibacille aussi bien que le Bacille d'Eberth. D'autres substances, caféine (Roth), vert-malachite (Löffler), vert brillant et acide picrique (Conradi), vert de Chine, azobleu, etc., ont été données comme susceptibles d'entraver le développement du Colibacille lui-même, sans gêner le Bacille typhique ; le fait n'est qu'en partie exact et l'extrême variabilité de l'espèce Colibacille explique facilement qu'on ne puisse aboutir dans cette voie à des conclusions absolues : certains Colibacilles se développent comme le Bacille typhique.

L'emploi du vert-malachite demande quelques explications. Löffler avait d'abord avancé qu'à dose de 1 p. 4 000, il ne gênait pas le développement du Bacille typhique, mais, par contre, mettait obstacle à la culture du Colibacille. On s'aperçut immédiatement que la dose optima de vert-malachite est très variable suivant les échantillons de cette substance. Depuis lors,

la préparation commerciale du vert-malachite a fait de grands progrès : il est beaucoup plus antiseptique, de telle sorte que les indications données ces dernières années correspondent à des doses relativement très faibles, jusque 1 p. 38 000 environ (Gaethgens). Toutefois, même à l'heure actuelle, le vert-malachite demeure variable d'un échantillon à l'autre ; il appartient à chacun de déterminer la dose optima pour chaque flacon employé. Aussi les formules données ci-dessous, en ce qui concerne le vert-malachite, n'ont-elles qu'une valeur d'indication.

2° Le Colibacille et le Bacille typhique s'accommodent également bien des diverses substances nutritives habituellement présentes dans les milieux. Mais il semble que la bile (Conradi) et plus spécialement le taurocholate de soude (Dunschmann) favorisent plus le Bacille d'Eberth que le Colibacille.

3° De toute manière, on n'arrive jamais à empêcher qu'un certain nombre de Colibacilles ne se développent en même temps que le Bacille typhique.

Pour différencier les deux microbes, on s'adresse presque toujours à des procédés imités de Würtz : on additionne les milieux de lactose ; le Bacille coli seul donne des acides, qu'on met en évidence par un indicateur variable (tournesol, substances colorantes) ; le Bacille typhique ne donne pas d'acides et ne change pas la teinte des milieux.

Milieux d'isolement et milieux d'enrichissement. — Au point de vue pratique, il y a lieu d'étudier des *milieux d'isolement* et des *milieux d'enrichissement.*

Sur les *milieux d'isolement*, le Bacille typhique donne des colonies assez bien différenciées ; mais ces milieux ne mettent généralement pas obstacle au développement du Bacille coli, de telle sorte qu'on ne peut y ensemencer que peu de fèces.

Les *milieux d'enrichissement*, au contraire, sont plus favorables pour le Bacille typhique que pour le Bacille coli ; ils permettent parfois d'isoler directement le Bacille d'Eberth, mais le fait est assez rare, parce que les colonies sont le plus souvent mal différenciées. Leur avantage est surtout de permettre une multiplication proportionnellement prédominante du Bacille typhique ; on pourra ensuite rechercher ce dernier par réensemencements sur les milieux d'isolement.

Marche générale des recherches. — A. Dans la pratique courante, et pour les besoins de la clinique, il suffit d'ensemencer les fèces sur milieux d'isolement. Les milieux seront répartis en grandes boîtes de Petri et séchés avant usage par un séjour de quinze à trente minutes à l'étuve, couvercle en partie enlevé. On dilue le

selles dans l'eau ordinaire stérilisée, de manière à obtenir une émulsion bien homogène et nettement trouble ; on dépose une ou deux gouttes de l'émulsion en bordure de la boîte, et on étale progressivement, à l'aide d'une spatule d'étalement Avec un peu d'habitude, une ou deux grandes boîtes suffisent.

Les boîtes sont ensuite placées à l'étuve, couvercle en bas. Après seize ou vingt-quatre heures, on examine ; les colonies suspectes sont soumises à un premier contrôle (morphologie, coloration simple et au Gram, mobilité) et réensemencées ensuite sur les divers milieux de différenciation. *On ne doit considérer comme Bacilles typhiques que les microbes présentant d'une manière incontestable tous les attributs de l'espèce* (morphologie, cultures, propriétés biologiques, agglutination spécifique).

B. Le procédé précédent donne toujours un résultat positif quand les Bacilles sont assez abondants. Spécialement pour la prophylaxie, il peut être utile de chercher à les déceler quand ils sont moins nombreux. On opérerera alors comme suit :

Ensemencer en milieu d'isolement, comme ci-dessus.

En outre, ensemencer VI à X gouttes de l'émulsion en milieu d'enrichissement.

Après le temps voulu de séjour à l'étuve (vingt-quatre heures en général), examiner les deux plaques. S'il n'y a pas de colonies nettement suspectes et isolées, sur l'une ou l'autre, le produit de la culture sur milieux d'enrichissement est émulsionné dans l'eau stérile, et l'émulsion ainsi obtenue est réensemencée sur milieux d'isolement. Ces boîtes de milieux d'isolement seront traitées ensuite comme ci-dessus.

Parmi les milieux d'isolement, nous recommandons surtout le milieu d'Endo. Celui de Fawcus est également très bon, mais sa préparation est un peu compliquée.

Comme milieux d'enrichissement, le milieu de Lentz et Tietz et celui de Ficker et Hoffmann ont à peu près la même valeur.

Milieux d'isolement. — *Milieu d'Endo.* — Au milieu nutritif, on ajoute comme antiseptique la fuchsine (fuchsine basique), que l'on réduit ensuite à l'état de rosaniline, incolore, par le sulfite de soude. Le milieu renferme en outre de la lactose, que le Bacille coli attaque en donnant des acides; ces acides, en se combinant à la rosaniline, font apparaître une teinte rouge ; au contraire, le Bacille typhique et les Bacilles paratyphiques n'attaquent pas la lactose et ne recolorent pas.

A. On prépare les solutions suivantes :

a. Dans un litre d'eau, faire macérer 500 grammes de viande de

bœuf, traiter comme d'ordinaire. Ajouter à la macération exprimée 10 grammes de peptone et 5 grammes de sel marin, puis 30 grammes de gélose; faire fondre à 100° (autoclave ouvert), filtrer.

b. Lactose, 10 grammes, dans 100 centimètres cubes d'eau ; stériliser.

c. Soude, solution à 10 p. 100; stériliser.

d. Fuchsine, 1 gramme dans 10 centimètres cubes d'alcool à 95°; broyer au mortier, laisser reposer vingt-quatre heures, filtrer.

e. Sulfite de sodium anhydre, 2gr,50 dans 25 centimètres cubes d'eau; stériliser.

B. Sitôt la solution *a* filtrée, la neutraliser; ajouter ensuite 10 centimètres cubes de soude stérile à 10 p. 100, puis la solution de 10 grammes de lactose ; puis 5 centimètres cubes de la solution de fuchsine, enfin les 25 centimètres cubes de sulfite de soude à 10 p. 100. Avoir soin de mélanger très soigneusement après chaque opération.

Répartir ensuite en flacons de 50 à 200 centimètres cubes; stériliser. Conserver au froid et à l'obscurité. Le milieu peut être conservé plusieurs semaines. Au moment de l'usage, faire fondre au bain-marie et couler en boîtes de Petri.

C. On peut éviter de renouveler fréquemment toutes les manipulations. Dans ce but, on prépare la solution *a* comme ci-dessus ; on neutralise, alcalinise et ajoute la lactose; répartir à ce moment par fractions de 100 centimètres cubes (exactement).

Au moment de l'emploi, faire fondre le contenu d'un flacon de 100 centimètres cubes; à la gélose fondue ajouter :

Fuchsine à 1 p. 10....	0cc,5
Sulfite de soude à 1 p. 10.....	2cc,5

Le Bacille typhique donne des colonies incolores, de 3 millimètres de diamètre environ en vingt-quatre heures ; le Bacille coli donne des colonies rouges, opaques.

Milieu de Gaethgens. — Identique au précédent, sauf deux modifications. Après neutralisation (à la phtaléine du phénol), ajouter par litre : 15 centimètres cubes de lessive normale de soude ; 1gr,3 de caféine.

Milieu de Drigalski-Conradi. — Antiseptique : le kristall-violet.

A. On prépare les trois solutions suivantes :

a. Faire macérer pendant vingt-quatre heures 1 500 grammes de viande dans 2 litres d'eau, puis exprimer, faire bouillir une heure ; ajouter 20 grammes de peptone de Witte, 20 grammes de nutrose et 10 grammes de sel marin; faire bouillir une heure, ajouter 60 grammes de gélose, porter une heure à l'autoclave, dans un ballon.

On peut remplacer la macération de viande par 20 grammes d'extrait Liebig.

b. Dissoudre 30 grammes de lactose dans 300 centimètres cubes de teinture de tournesol; faire bouillir quinze minutes.

c. Stériliser une solution de soude à 10 p. 100.

d. Dissoudre 0gr.10 de kristall-violet (marque Höchst) dans 100 centimètres cubes d'eau distillée chaude.

B. La solution *a* encore chaude et liquide, y verser la solution lactose-tournesol; puis agiter pour faire mousse et incliner pour porter la mousse dans le col; ajouter de la soude jusqu'à ce que la mousse soit légèrement bleue. A ce moment, ajouter encore 4 centimètres cubes de soude à

Fig. 204. — Isolement du Bacille typhique venant des matières fécales sur milieu d'Endo. Colonies rouges : Colibacille ; Colonies incolores : Bacille typhique.

10 p. 100. Verser enfin 20 centimètres cubes de la solution de kristall violet. Répartir en flacons ou en boîtes de Petri.

Le Bacille d'Eberth et les Bacilles paratyphiques donnent des colonies incolores. Les colonies du Bacille coli sont rouges.

Milieu de Chantemesse. — Antiseptique : acide phénique.

Le milieu nutritif renferme : peptone, 3 grammes ; lactose, 2 grammes; gélose, 2 grammes ; eau, 100 grammes.

Au moment de l'emploi, on ajoute au milieu liquéfié, pour 10 centimètres cubes : 1° IV gouttes d'acide phénique à 3 p. 100 ; 2° 1 centimètre cube de teinture de tournesol. Répartir en boîtes de Petri.

Les colonies de Bacille typhique sont incolores ; celles du Bacille coli sont rouges.

Milieu de Kindborg. — Antiseptiques : fuchsine acide et vert-malachite.

Préparer 1 litre de bouillon gélosé à 3 p. 100 ; neutraliser, ajouter successivement :

Lessive normale de soude, 3cc,75.
Lactose, 50 grammes.
Fuchsine acide, solution aqueuse saturée, 50 centimètres cubes.
Vert-malachite, solution aqueuse à 1 p. 120, 40 centimètres cubes.
Les colonies de Bacille typhique décolorent le milieu; les colonies de Bacille coli sont rouges.

Milieu de Conradi. — Antiseptiques : vert brillant et acide picrique.

a. Dans 900 grammes d'eau, faire fondre 20 grammes d'extrait Liebig et 30 grammes de gélose ; stériliser, filtrer sur coton. Ajouter 100 centimètres cubes d'une solution stérilisée de peptone de Witte à 11 p. 100.

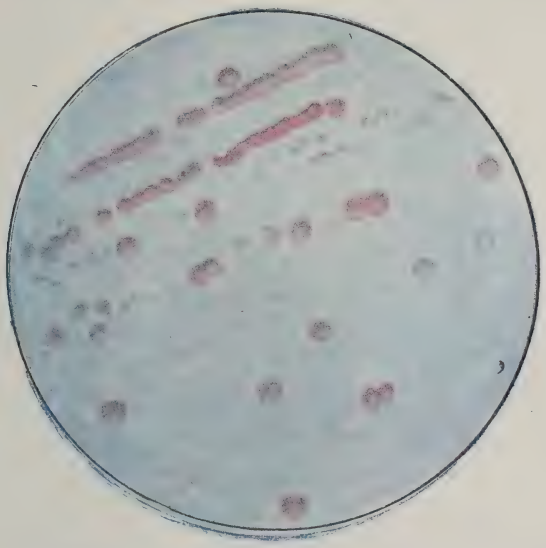


Fig. 205. — Isolement du Bacille typhique venant des matières fécales sur milieu de Drigalski-Conradi. — Colonies rouges : Colibacille ; colonies incolores : Bacille typhique.

b. Acidifier le milieu à 3 p. 100 (de telle sorte que 100 centimètres cubes soient neutralisés à la phtaléine du phénol, par l'addition de 3 centimètres cubes de lessive normale de soude). Dans ce but, on prélève un échantillon de milieu ; on cherche combien il faut y ajouter d'alcali (lessive normale de soude) ou d'acide (solution normale d'acide phosphorique), pour obtenir le degré voulu d'acidité. Un calcul très simple fera connaître combien il faut ajouter d'acide ou d'alcali à la masse restante.

c. A 1 500 centimètres cubes du milieu acidifié, ajouter :

Vert brillant cristallisé, extra pur (Grübler),
solution aqueuse à 1 p. 1 000..... 10 centimètres cubes.
Acide picrique, solution aqueuse à 1 p. 100. 10 — —

d. Répartir.

Le Bacille coli pousse très peu ou pas du tout. Les colonies de Bacille

typhique sont d'un vert clair, transparentes: celles des Bacilles paratyphiques sont vert jaunâtre.

Milieu de Fawcus. — Antiseptiques : comme le précédent. Le milieu est analogue au milieu de Conradi, sauf les modifications suivantes :

Au temps *a*, ajouter en plus 5 grammes de taurocholate de soude et 20 grammes de sel marin.

Au temps *b*, porter l'acidité à 1,5 p. 100, avec les solutions normales de soude ou d'acide lactique. Ajouter 10 grammes de lactose, dissous dans 100 centimètres cubes d'eau.

Répartir en flacons de 150 centimètres cubes.

c, Au moment de l'emploi, faire fondre ; ajouter par flacon :

Vert brillant, solution à 1 p. 1 000..... 3 cent. cubes.
Acide picrique, solution à 1 p. 100..... .... 3 —
Couler en boîtes de Petri.

Les acides formés par le Colibacille précipitent le taurocholate (teinte noire).

Le Bacille d'Eberth et les Bacilles paratyphiques donnent des colonies transparentes ou vert pâle ; les colonies du Colibacille sont opaques et le plus souvent vert très foncé, parfois blanches.

Milieu de Dünschmann, — Ce milieu ne renferme aucun antiseptique susceptible de gêner le développement de la plupart des germes.

On emploie, pour 100 grammes d'eau : peptone, 3 grammes ; lactose, 3 grammes; gélatine, 1 gramme ; taurocholate de soude, 1 gramme; gélose, 3 grammes. Faire dissoudre, chauffer à 120° ; filtrer, répartir par 10 centimètres cubes et stériliser. Ajouter après stérilisation 1 centimètre cube de teinture de tournesol par tube.

Pour l'emploi : répartir en boîtes de Petri; ensemencer quatre à cinq boîtes, sans recharger la spatule.

Milieux d'enrichissement. — *Milieu de Löffler et de Lentz et Tietz.* — Antiseptique : le vert-malachite. Préparer du bouillon gélosé à 3 ou 4 p. 100; alcaliniser à 1 p. 100 suivant les indications données ci-dessus, procédé de Conradi, temps *b* ; ajouter enfin la proportion optima de vert-malachite, proportion très variable, comme nous l'avons dit plus haut.

On utilisera ce milieu comme il est indiqué ci-dessus (p. 494).

Milieu de Padlewsky. — A 1 litre de bouillon gélosé à 4 p. 100, ajouter 3 p. 100 de bile de bœuf et 1 p. 100 de lactose; alcaliniser légèrement; répartir et stériliser. Avant l'emploi, ajouter pour 100 centimètres cubes de milieu :

5 centimètres cubes de solution aqueuse de vert-malachite à 1 p. 100.

5 centimètres cubes de bile;

1 centimètre cube de sulfite de soude à 10 p. 100.

Milieu de Werbitzki. — Antiseptique : le vert de Chine.

Préparer 1 litre de bouillon peptoné (peptone de Witte, 1 p. 100), et

gélosé à 3 p. 100, alcaliniser à 1,3 p. 100, chauffer à l'autoclave, filtrer, répartir par 100 centimètres cubes et stériliser.

Au moment de l'emploi, ajouter, pour 100 centimètres cubes de milieu, 1cc,4 à 1cc,5 de vert de Chine en solution aqueuse à 2 p. 1000.

Procédé de sélection basé sur la mobilité. — Carnotet Weill-Hallé utilisent les tubes à sable : un tube en U de 5 à 6 centimètres de diamètre est rempli de sable sur une hauteur de 10 centimètres (pour chaque branche) ; on verse ensuite du bouillon, qui doit déborder un peu le sable. Après stérilisation, on dilue la semence suspecte dans la couche supérieure de bouillon d'une des branches ; on porte à l'étuve à 37° pendant dix-huit heures ; après quoi, on examine et on ensemence la couche superficielle de bouillon de la branche non ensemencée. Le Bacille typhique, très mobile, passe généralement plus vite que les autres germes.

Recherche du Bacille typhique dans l'eau. — L'épidémiologie démontre à l'évidence que le Bacille typhique existe souvent dans l'eau ; mais l'analyse bactériologique est presque toujours impuissante à le déceler, pour des raisons diverses.

1° On pratique généralement l'analyse à propos d'une épidémie ; or, celle-ci apparaît en moyenne quinze jours au moins après la date de contamination de l'eau, et pendant ce laps de temps le Bacille typhique a le plus souvent disparu.

2° Le Bacille typhique provenant presque toujours des fèces est fatalement accompagné d'un nombre considérable de Colibacilles ; ces derniers, plus résistants dans l'eau et plus vivaces dans les cultures, gênent beaucoup la recherche. Il en est de même d'un très grand nombre d'autres microbes.

On a également avancé que le Bacille typhique modifie ses caractères quand il vit en présence de Colibacille, mais le fait nous paraît improbable, car il est en contradiction absolue avec les constatations faites tous les jours dans la fièvre typhoïde humaine ; le Bacille typhique de l'intestin conserve en effet ses attributs, malgré la présence concomitante du Colibacille.

Conduite de l'expertise. — Le mieux est d'ensemencer sur l'un ou l'autre des milieux d'isolement étudiés ci-dessus (p. 494). Mais, le Bacille typhique étant toujours peu abondant dans les eaux, il est presque constamment nécessaire d'user d'un artifice : on concentre les microbes, ou bien on favorise la pullulation du Bacille d'Eberth, ou bien on le sépare par mobilité.

Certains auteurs se contentent de simples cultures sur plaques de gélatine ; mais ce procédé est tout à fait insuffisant, la quantité d'eau examinée dans ces conditions étant forcément très restreinte.

Concentration par précipitation. — *Procédés de Vallet et de Schueder.* — A 1 litre d'eau à analyser, ajouter 10 centimètres cubes d'hyposulfite de soude à 7,75 p. 100 (stérilisé), puis 10 centimètres cubes d'azotate de plomb à 10 p. 100; on centrifuge, ou bien on laisse reposer pendant vingt-quatre heures. Le liquide surnageant est décanté; on ajoute au dépôt 7 centimètres cubes d'hyposulfite de soude à 10 p. 100; on agite, laisse reposer et décante. Le liquide clair est ensemencé sur milieux d'isolement, à raison de 0cc,5 à 2 centimètres cubes par boîte.

Procédé de Ficker. — A un litre d'eau, ajouter 4 centimètres cubes de soude à 10 p. 100, puis 3cc,5 de sulfate de fer à 10 p. 100. Centrifuger après précipitation, dissoudre le dépôt dans son demi-volume de tartrate de potasse à 25 p. 100; ensemencer sur milieux d'isolement.

Procédé de Müller. — Pour 3 litres d'eau, ajouter 10 centimètres cubes de soude à 10 p. 100, puis 5 centimètres cubes d'oxychlorure de fer; enrichir le dépôt par cultures dans la bile; ensemencer sur milieux d'isolement la culture obtenue.

Concentration par dépôt sur bougie filtrante. — On fait filtrer l'eau par aspiration à travers une bougie filtrante; un enduit se dépose sur la paroi externe de la bougie. Cet enduit renferme la majeure partie des microbes. On le détache avec un tampon d'ouate stérile qu'on émulsionne ensuite dans une petite quantité d'eau; l'émulsion obtenue est ensemencée sur milieux d'isolement. Ce procédé, très simple, est l'un des meilleurs.

Concentration par agglutination. — *Procédé de Chantemesse.* — Chantemesse fait justement observer que le Bacille typhique végète mal dans l'eau; pour le rajeunir, on fait tout d'abord une culture totale de l'eau, en l'additionnant de 3 p. 100 de peptone Defresne et plaçant vingt heures à l'étuve à 24°. On filtre ensuite sur papier stérile; on additionne le filtrat de sérum antityphique. Les Bacilles typhiques s'agglutinent en grumeaux. On centrifuge; le dépôt obtenu est additionné de bouillon, émulsionné, et filtré sur papier stérile : les amas restent sur le filtre. On tamponne le filtre avec un bouchon de verre; le bouchon est essuyé sur des plaques de gélose lactosée phéniquée.

Les procédés de Windelbandt et d'Altscher sont identiques au précédent dans leurs points essentiels.

Séparation basée sur la mobilité. — *Procédé de Cambier.* — Le Bacille typhique, très mobile, traverse les bougies filtrantes plus rapidement que les autres microbes.

a. On filtre l'eau sur bougie filtrante et on recueille le dépôt (comme ci-dessus, *concentration par dépôt*); le tampon d'ouate est placé dans quelques centimètres cubes de la solution suivante : peptone Defresne, 100 grammes; soude à 1 p. 10, 2 centimètres cubes; sel marin (solution saturée), 12 centimètres cubes. On met à l'étuve à 37°, pendant trois heures.

b. D'autre part, on place une bougie Chamberland F dans un grand tube à essais; on stérilise le tout; au moment de l'emploi, on introduit dans la bougie 20 centimètres cubes de la solution pepto-salée indiquée plus haut. On porte à 37°; le liquide filtre à travers la paroi et se répand dans le tube.

c. On ensemence l'émulsion microbienne, préparée en *a*, dans le liquide nutritif placé à l'intérieur de la bougie. On porte à 37°. On surveille le liquide extérieur; dès qu'il se trouble, on en prélève une partie pour ensemencer sur les milieux habituels.

Dans les épreuves faites avec des Bacilles de laboratoire, le Bacille typhique passe généralement plus vite que le Bacille coli ; mais en pratique, il en va tout autrement. Ce procédé, ingénieux, n'est guère utilisé.

Enrichissement dans un milieu électif. — On additionne l'eau à analyser des éléments d'un des milieux d'enrichissement étudiés plus haut (p. 498). La formule la plus employée est celle de Ficker et Hoffmann.

Procédé de Ficker et Hoffmann. — A 900 centimètres cubes d'eau, on ajoute successivement :

Solution de nutrose à 10 p. 80.....	80 cent. cubes.
Solution de caféine à 25 p. 100.....	20 —
Solution de kristall-violet à 0,1 p. 100.....	10 —

Placer douze heures à l'étuve à 37°. Ensemencer la culture obtenue sur les milieux d'isolement.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Pour le clinicien, il est d'une importance capitale de pouvoir baser sur les procédés bactériologiques un diagnostic d'infection typhoïdique.

Les procédés susceptibles d'applications cliniques essayent de déceler chez le malade l'existence soit du Bacille typhique lui-même, soit des anticorps spécifiques.

De beaucoup les plus importants sont l'hémoculture (recherche du Bacille dans le sang) et le sérodiagnostic (réaction de Widal).

I. **Recherche du Bacille dans le sang (hémoculture).** — Le Bacille typhique est présent dans le sang pendant toute la maladie (Voy. p. 490). On peut le déceler en pratiquant des cultures du sang.

Les procédés à mettre en œuvre seront décrits plus loin (V. *Hémoculture*).

On trouve le Bacille d'autant plus facilement que l'affection est moins avancée. C'est ce qui ressort de la statistique de Coleman et Buxton, basée sur 581 cas empruntés à la littérature médicale.

Dans la 1re semaine..	93 p. 100	résultats	positifs.
— 2e —	79	—	—
— 3e —	56	—	—
— 4e —	32	—	—

Dans tous les cas, une fois la culture obtenue, *il est toujours indispensable de procéder à un isolement* et de vérifier les caractères du microbe sur des colonies bien isolées. L'oubli de cette précaution élémentaire entraîne à des erreurs grossières. L'isolement est

toujours nécessaire, au moins toutes les fois que les cultures donnent lieu à quelque hésitation au point de vue de l'identification du microbe, et même si l'aspect microscopique ne décèle que des Bacilles de morphologie uniforme (il y a assez souvent infection mixte par le Bacille typhique et les Bacilles paratyphiques).

L'isolement s'obtient facilement par dilutions sur tubes de gélose. On peut d'ailleurs utiliser tout autre procédé (isolement sur un milieu différentiel, par exemple).

Une ou plusieurs colonies isolées seront ensuite identifiées. Dans cette recherche, on s'assurera que le Bacille possède bien l'ensemble des attributs du Bacille typhique, spécialement en ce qui concerne la morphologie, les caractères culturaux et les réactions à l'égard des sérums.

On se souviendra que les cultures provenant directement du malade sont parfois peu agglutinables dans les premières générations (Sacquépée et Perquis). L'aptitude agglutinative réapparaît dans les cultures ultérieures (J. Courmont).

II. **La réaction de Widal, ou application de la séro-réaction au diagnostic des infections typhoïdes humaines.** — Nous avons vu plus haut que le sérum des malades infectés par le Bacille d'Eberth acquiert la propriété d'agglutiner ce Bacille ; cette réaction, ou réaction de Widal, peut être utilisée pour le diagnostic.

La réaction de Widal est aujourd'hui d'usage courant. Elle ne présente aucune difficulté ; certaines variantes permettent de la pratiquer en dehors même des laboratoires.

La réaction de Widal a pour but de permettre un diagnostic clinique, basé sur les propriétés agglutinantes du sérum du malade. Or le groupe des infections typhoïdes comprend trois maladies différentes, provoquées respectivement par le Bacille typhique ou par les Bacilles paratyphiques A ou B ; et ces trois maladies sont tellement voisines dans leur aspect symptomatique, qu'elles ne peuvent être distinguées l'une de l'autre que par les épreuves de laboratoire. Aussi, en pratique, un séro-diagnostic pour infection à forme typhoïde doit-il toujours porter sur les trois germes ci-dessus : Bacille typhique (T), bacille paratyphique A (A), Bacille paratyphique B (B), et c'est sous cette forme que nous l'étudierons, en envisageant successivement le pouvoir agglutinant du sérum des malades, la technique de la réaction, l'interprétation des résultats.

A. *Le pouvoir agglutinant du sérum chez les malades.* — Il faut tout d'abord résumer les faits actuellement établis en matière d'agglutination, d'une part chez les sujets non vaccinés, d'autre par

chez les sujets vaccinés contre les Bacilles T, A et B (vaccination mixte, Voy. plus loin).

1° *Chez les sujets non vaccinés*, atteints d'une infection par l'un des trois Bacilles T, A ou B, le sérum acquiert généralement des propriétés agglutinantes pour le Bacille infectant (agglutinines spécifiques), parfois aussi pour l'un ou l'autre des deux Bacilles non infectants (coagglutinines).

Dans la très grande majorité des cas, l'agglutination la plus forte correspond au Bacille infectant.

Cette loi générale comporte cependant de rares exceptions; dans 2 à 3 p. 100 des cas, la coagglutination peut être plus élevée que l'agglutination spécifique. Mais d'autre part, le taux des coagglutinines ne peut pas s'élever indéfiniment; au maximum, elles peuvent atteindre cinq fois le taux de l'agglutination (Sacquépée et Chevrel).

En raison du pouvoir agglutinant de certains sérums normaux, on considérera comme « valables », c'est-à-dire susceptibles de faire présumer une infection, des agglutinations positives au minumum au taux de :

1 p. 100 pour le B;
1 p. 50 pour le T et le A.

2° *Chez les sujets vaccinés contre T, A et B*, les propriétés agglutinantes (provoquées par l'injection vaccinale) sont très marquées pendant les deux premiers mois, persistent encore pendant le troisième mois; après le troisième mois, le sérum n'agglutine presque jamais aucun des trois Bacilles au delà de 1 p. 200 (Gautier et Weissenbach, P.-P. Lévy, Sacquépée).

Inutilisable pendant les trois premiers mois qui suivent la vaccination, l'agglutination peut par contre dans la suite être étudiée avec profit, si les circonstances cliniques le demandent.

Même dans ce cas, les taux valables seront au minimum :

1 p. 300 pour T;
1 p. 150 pour A et B.

B. *Technique*. — **Précautions d'ordre général.** — Pour les trois germes, T, A et B, on fera usage de souches bien vérifiées, de spécificité certaine, et douées d'une aptitude agglutinative normale. Ne pas oublier que certaines souches sont spontanément agglutinables, et surtout que d'autres se laissent difficilement agglutiner.

Procédé recommandé. — On utilisera de préférence le *procédé ma-*

croscopique, procédé simple, commode, et peu sujet aux erreurs d'interprétation.

a. Préparer d'abord une émulsion des trois espèces à étudier. Dans ce but, ensemencer chacun des Bacilles sur gélose inclinée ; après dix-huit à vingt-quatre heures, émulsionner la culture dans l'eau physiologique, de manière que le trouble obtenu soit comparable à celui d'une culture de Bacille T ving-quatre heures en bouillon diluée au demi (soit environ 500 millions de Bacilles par centimètre cube). Cette émulsion peut être employée fraîche ; elle est utilisable pendant plusieurs jours.

b. Recueillir le sérum sanguin (Voy. chap. XIII).

c. Pour l'épreuve, disposer 12 petits tubes (à hémolyse ou à agglutination). Répartir dans chaque tube un centimètre cube d'émulsion, dans l'ordre suivant : 1 à 4, émulsion de T ; 5 à 8, émulsion de A ; 9 à 12, émulsion de B.

d. Diviser le sérum en quatre parts :

Une part est conservée telle quelle ;

Une deuxième est diluée au tiers, dans l'eau physiologique ;

Une troisième est diluée au sixième, dans l'eau physiologique ;

Une quatrième est diluée au douzième, dans l'eau physiologique.

e. A l'aide d'une pipette donnant 50 gouttes au centimètre cube, ajouter respectivement :

Aux tubes 4, 8 et 12,	une goutte	de sérum	pur (non dilué) ;	
— 3, 6 et 11,	—	—	dilué au tiers ;	
— 2, 6 et 10,	—	—	—	sixième ;
— 1, 5 et 9,	—	—	—	douzième.

Agiter fortement, pour bien assurer le mélange. Porter à 37°.

Un calcul simple montre que, pour chacune des trois séries de Bacilles, les réactions sont faites approximativement aux taux de 1 p. 50, 1 p. 150, 300, 600 (exactement 1 p. 51, 1 p. 153, 1 p. 306, 1 p. 612).

f. Surveiller de temps à autre. Dans les tubes où la réaction est positive, on voit se former des flocons (amas de Bacilles) qui grossissent peu à peu et finalement se précipitent au fond du tube, en même temps que le liquide s'éclaircit.

Durée optima de contact : quatre à six heures (à 37°).

Après ce laps de temps, seront considérées comme indiquant un résultat positif, toutes les réactions ayant donné des flocons bien nets. Transcrire immédiatement les résultats, avec tous leurs détails.

Remarques. — 1° Ainsi faite, l'épreuve donne le plus souvent une réponse décisive ; mais elle peut aussi laisser quelque incerti-

tude pour l'interprétation. On recommencera alors de nouvelles épreuves en utilisant les espèces microbiennes et les taux d'agglutination qui paraissent nécessaires pour amener une décision.

On trouvera plus loin, à l'article *Interprétation des résultats*, les indications nécessaires à cet égard.

2° Il est toujours utile de déterminer le *taux limite d'agglutination*. Si donc l'un des germes est encore agglutiné à 1 p. 600, on poursuivra à des taux plus élevés.

Variantes. — Concernant la température. — Les réactions précédentes peuvent être faites à la température ambiante ; elles sont alors plus lentes. Durée optima de contact : douze à vingt-quatre heures.

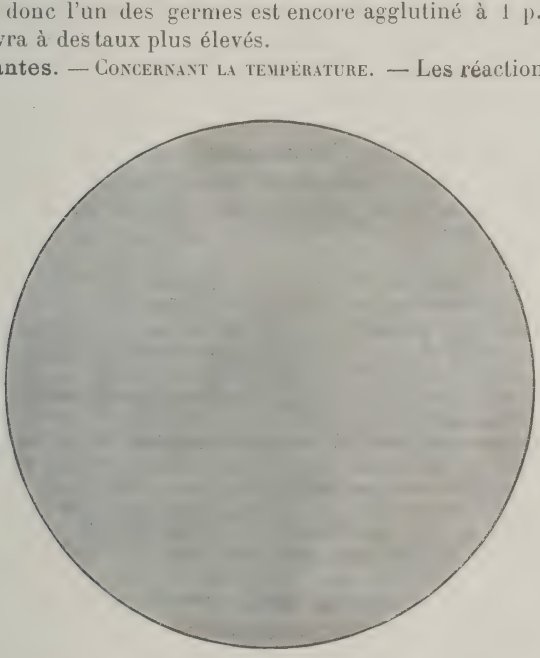


Fig. 206. — Culture de Bacille typhique (témoin) examiné à l'état frais.

Concernant la méthode d'examen. — Au procédé décrit ci-dessus, macroscopique, on peut substituer le procédé microscopique, très employé au début, lorsqu'on se contentait d'une ou de deux dilutions de T, mais qui exige des manipulations plus longues et multipliées, peu compatibles avec les nombreuses épreuves aujourd'hui exigées pour toute séro-réaction. Technique :

a. Comme ci-dessus. S'assurer, par un examen microscopique, que l'émulsion ne renferme pas d'amas spontanés.

b. Comme ci-dessus.

c. Pour l'épreuve, disposer 12 tubes, ou 12 verres de montre.

d, *e*. Comme ci-dessus.

f. Au bout d'une demi-heure, — plus tôt, si l'examen macroscopique en donne l'indication, — on procédera à *l'examen microscopique*.

Agiter les mélanges (fil de platine) pour répartir uniformément. Porter entre lame et lamelle une anse de chaque mélange.

Examiner à l'état frais, sans coloration : objectif 7 ou 8.

On reconnaîtra une *agglutination positive* aux caractères suivants :

Les Bacilles isolés sont rares ou presque absents. La préparation renferme surtout des amas plus ou moins volumineux, nettement séparés les uns des autres; les uns petits, formés de 4 à 5 Bacilles à peine déformés; d'autres énormes, masses indistinctes de Bacilles agglomérés et comme fondus ensemble; d'autres de volume intermédiaire (fig. 207).

Pour être toujours prêt à pratiquer un sérodiagnostic, on peut *conserver la culture*. Le meilleur procédé est celui décrit dans le paragraphe précédent (*a*). A défaut, on peut utiliser des cultures « fixées » par le formol, 1 goutte de formol par 6 gouttes de culture (Widal et Sicard). P. Courmont préfère cultiver et conserver dans le milieu suivant, réparti en grands tubes remplis aux deux tiers (les amas tombent au fond) : eau, 100; peptone, 2; glucose 1.

Concernant le sang desséché. — *f*. On a constaté que le sang desséché sur papier (Widal et Sicard) ou sur lame de verre (Besson) conserve ses propriétés agglutinantes pendant plusieurs mois. Ce fait est intéressant mais peu applicable en clinique, car on ne peut faire de dosages sérieux. Pour l'emploi, on dissout d'abord le sang sec dans un peu d'eau; cette solution sanglante est utilisée comme le sérum.

C. ***Interprétation des résultats.*** — *Chez les sujets non vaccinés.* — Lorsque le sérum n'agglutine à dose valable qu'une seule des trois espèces, les deux autres espèces n'étant pas agglutinées à un taux six fois moindre, l'agglutinine trouvée doit être considérée comme spécifique.

De même si, plusieurs espèces étant agglutinées à dose valable, le taux d'agglutination de l'une d'elles est au moins six fois plus élevé que celui des autres. L'agglutinine la plus forte sera considérée comme spécifique.

Les taux d'agglutination recommandés plus haut, permettront dans la majorité des cas d'obtenir d'emblée une réponse décisive. S'il n'en est pas ainsi, il faut pratiquer de nouvelles épreuves, pour arriver à vérifier si la règle est ou n'est pas applicable.

Dans cette dernière alternative on pourra :

Ou procéder à la saturation des agglutinines (chap. IV) ;

Ou répéter l'épreuve avec un sérum prélevé ultérieurement.

Un résultat négatif pour les trois espèces n'a pas de grande signification. Tout au plus peut-on dire que la constatation à plusieurs reprises de l'absence d'agglutination, chez un sujet sûrement atteint d'infection typhoïde, constitue une présomption en faveur de l'infection paratyphoïde A (P. Courmont, Chattot et Pierret).

Chez les sujets vaccinés contre T A B. — A partir du quatrième mois qui suit la vaccination, on appliquera les mêmes règles que

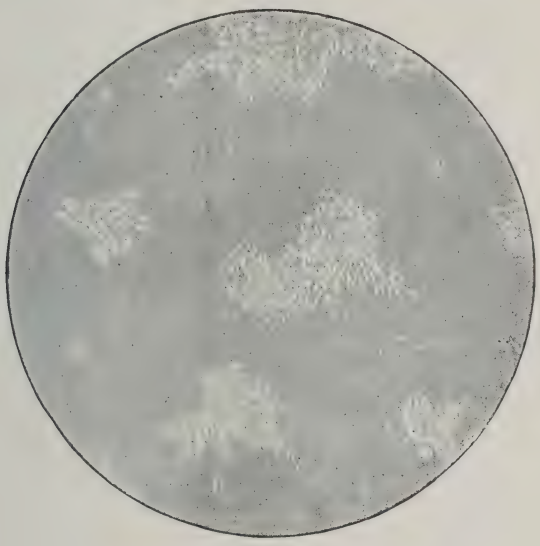


Fig. 207. — Culture du Bacille typhique agglutiné.

ci-dessus, en se souvenant toutefois que pour mériter crédit, les taux d'agglutination doivent être sensiblement plus élevés.

D. *Séropronostic*, — D'après P. Courmont, la courbe d'agglutination est régulière, d'abord ascendante, puis descendante, dans la fièvre typhoïde normale. Elle demeure basse ou irrégulière dans les formes graves.

III. **Autres méthodes de diagnostic.** — *Recherche du bacille dans les excreta.* — La présence du bacille dans les selles est inconstante ; on le trouve dans la moitié ou le tiers des cas environ, suivant les estimations. Sans être difficile, l'examen bactériologique des fèces demande beaucoup d'application et d'habitude.

Le praticien du laboratoire fera bien de s'exercer au préalable en ensemençant un mélange de *B. coli* et de *B. typhique*, puis des selles de typhiques avérés.

La méthode est utile surtout quand l'hémoculture est impossible ou négative (particulièrement dans les formes légères et que les résultats du sérodiagnostic ne sont pas suffisamment probants. Elle est nécessaire pour la recherche des porteurs de bacilles. On ne devrait pas rendre un typhique à la vie courante avant de s'assurer s'il excrète ou non des bacilles.

Au point de vue technique, on emploiera l'une ou l'autre des méthodes décrites ailleurs (Voy. p. 494); il est bon de s'habituer à l'une d'elles.

Ne pas oublier que toute colonie suspecte doit être identifiée avec le plus grand soin. Les microbes qui prêtent le plus à confusion avec le Bacille typhique sont: Bacilles paratyphiques, *B. fæcalis alcaligenes*, certaines races peu ou pas chromogènes de pyocyanique.

Biliculture (recherche du bacille dans la bile). — Carnot et Weill-Hallé préconisent deux procédés pour prélever la bile chez les malades ou les suspects.

a. Faire ingérer à jeun 150 grammes d'huile d'olive; une heure après, pratiquer un tubage de l'estomac. La sonde ramène un mélange de mucus, d'huile et de bile. La bile se décante.

b. Ou bien, pratiquer un tubage dans le duodénum.

Dans les deux cas, ensemencer la bile sur milieux appropriés. On obtient souvent des cultures presque pures. Procédés indiqués spécialement chez les porteurs de germes, et chez les malades dont l'hémoculture est négative et la séro-réaction inutilisable.

Recherche du bacille dans les urines. — La présence du bacille étant très inconstante, cette méthode ne saurait être généralisée. Mais on peut d'autant mieux l'utiliser que la recherche du Bacille typhique est beaucoup plus facile que dans les selles, en raison du nombre moins élevé de saprophytes (*B. coli* surtout).

Chez la femme, prélever l'urine par sondage. Chez l'homme, il suffit de laver le méat et de recueillir l'urine dans un verre stérile. Employer les milieux de recherche.

Recherche du bacille dans la rate. — Préconisée naguère par Philippowitzet Lucatello. Dangereuse (rupture de la rate, hémorragie, etc.), elle ne peut être recommandée, surtout depuis que l'hémoculture nous donne les mêmes renseignements.

VACCINATION.

Il est connu que, chez l'homme, une première atteinte de fièvre typhoïde confère en général l'immunité. Aussi pouvait-on songer à vacciner les espèces sensibles. Les premiers essais ont été faits expé-

rimentalement sur l'animal. Depuis quelques années, la vaccination antityphique est appliquée à l'homme.

Vaccination chez les animaux. — 1° Chantemesse et Widal (1888) ont démontré que des animaux (souris), injectés à plusieurs reprises à l'aide de cultures atténuées (tuées par la chaleur), sont vaccinés contre l'inoculation ultérieure de Bacilles virulents.

2° Dans la suite on a vacciné les animaux à l'aide des méthodes les plus diverses.

En particulier, toute les méthodes appliquées à l'homme (Voy. ci-dessous) ont été d'abord expérimentées, avec succès, sur l'animal.

3° Quelques auteurs ont obtenu accessoirement la vaccination des animaux inoculés dans le but de fournir un sérum antityphique (chevaux, chèvres, moutons). Le produit injecté consiste alors soit en cultures vivantes (Chantemesse, Besredka, Rodet), en toxine (Chantemesse), en cultures tuées, etc.

Vaccination chez l'homme. — ***Vaccin antityphique et vaccin mixte*** (*vaccin T A B*). — Chez l'homme, on a tout d'abord utilisé un vaccin préparé exclusivement contre le Bacille typhique. Des applications en grand en furent faites par Wright, H. Vincent, etc.

Une telle méthode, très efficace pour lutter contre les infections dues au Bacille typhique, ne pouvait évidemment avoir aucune efficacité à l'égard des infections paratyphoïdes. L'un de nous avait déjà établi depuis longtemps que ces dernières ne sont pas rares sous nos climats; et dans la première période de la guerre, elles se sont montrées remarquablement fréquentes. Nous y reviendrons plus loin (Voy. *Résultats pratiques*).

Aussi, depuis lors, s'est-on efforcé de réaliser des vaccinations mixtes, en inoculant un vaccin trivalent, actif à la fois contre T, A et B (vaccin T A B). Les vaccins mixtes sont pratiquement seuls employés à l'heure actuelle, et c'est à leur étude que sera consacré ce chapitre.

État de la substance vaccinante. — La base des vaccins est toujours la culture des Bacilles, mais cette culture peut être utilisée sous différentes formes.

a. *Bacilles vivants.* — Castellani a préconisé l'injection de Bacilles typhiques vivants, atténués par chauffage à 50°. Procédé éventuellement dangereux, vu la possibilité de disséminer le germe.

b. *Autolysats.* — Les autolysats ont été employés sous diverses formes. Dans son premier procédé, H. Vincent cultive sur gélose, émulsionne en eau physiologique, laisse l'émulsion à l'étuve pendant deux à quatre jours. Après quoi on centrifuge ; le liquide sur-

nageant est stérilisé par l'éther ; on soutire enfin le liquide, qui constitue l'autolysat.

Wassermann, puis Shiga et Neisser stérilisent les cultures à 60°, puis abandonnent à l'autolyse à 37° pendant trois à cinq jours ; on filtre ensuite sur bougie. C'est le filtrat, tel quel (Shiga) ou concentré (Wassermann), qui est utitisé comme vaccin.

Bassenge et Meyer emploient le filtrat de cultures vivantes, soumises au préalable à l'agitation pendant trois jours.

c. *Cultures tuées.* — La plupart des auteurs emploient des cultures stérilisées. Les procédés employés pour obtenir la stérilisation sont variables : c'est le plus souvent la chaleur, à la suite de Chantemesse et Widal ; ou l'éther (H. Vincent), l'irradiation par les rayons ultra-violets (M. Renaud), etc. Nous retrouverons plus loin les procédés les plus répandus.

Voies d'introduction. — Presque tous les vaccins sont inoculés par *voie sous-cutanée.*

L'*inoculation intraveineuse* (bacille T) a été préconisée par Friedberger et Moreschi.

La *voie digestive*, généralement considérée comme inefficace, a été étudiée de nouveau récemment par Besredka. On sait que le lapin est normalement insensible à l'ingestion de Bacille paratyphique. Mais si on lui fait ingérer au préalable de la bile, il devient sensible à l'ingestion ultérieure de Bacille paratyphique. Inversement, l'ingestion d'une culture de Bacille typhique ou paratyphique, à la condition qu'elle soit assaissonnée de bile, suffit à conférer une immunité solide. Il résulte de ces expériences la perspective de pouvoir, dans des conditions à préciser, utiliser la voie digestive pour la vaccination.

J. Courmont et Rochaix ont d'autre part utilisé la *voie rectale* (lavement vaccinal additionné de laudanum).

Étude des principaux procédés employés. — Procédé de Wright-Leishman. — Les cultures sont faites en bouillon peptonisé ; après vingt-quatre à quarante-huit heures, elles sont stérilisées par la chaleur, puis additionnées de lysol (2,5 p. 100) pour maintenir ultérieurement la stérilité du produit.

Procédé de H. Vincent. — On utilise pour la préparation du vaccin dix souches de T, cinq de A, cinq de B, les souches étant de provenance variée. Des cultures de vingt-quatre heures sur gélose sont émulsionnées dans l'eau physiologique ; les émulsions, amenées à la concentration et aux proportions voulues, sont ensuite additionnées d'éther ; on agite et laisse vingt-quatre heures au contact, pour assurer la stérilisation. On soutire ensuite le liquide. On fait

disparaître les traces d'éther en solution, soit par simple séjour à l'air, soit par action du vide avant le remplissage des ampoules. Le vaccin mixte renferme, par centimètre cube, 2 500 000 000 de germes, dont 1/2 T, 1/4 A et 1/4 B.

Il est pratiqué actuellement une seule inoculation de 2 centimètres cubes, chez les hommes normaux. Deux inoculations sont prévues pour les sujets malingres.

Procédé de Widal et Salimbeni. — On utilise des souches de bacille T, A et B, sélectionnées d'après leur pouvoir antigène. Les cultures obtenues après dix-huit heures sont émulsionnées dans l'eau physiologique, stérilisées pendant une heure dans un appareil à agitation continue, à 57° pour B, à 56° pour T et A. Le mélange est constitué de manière à renfermer finalement, par centimètre cube, 4 200 000 000 de germes, dont 3/7 de T, 2/7 de A et 2/7 de B.

Il est pratiqué, suivant les circonstances, soit une seule inoculation de 1,5 centimètre cube, soit deux inoculations de 1 et 2 centimètres cubes.

Procédé de Senez et Ranque. — Des émulsions de cultures sur gélose sont stérilisées par addition de 1 p. 100 de solution iodo-iodurée à 2 p. 100. On neutralise ensuite l'iode par l'hyposulfite de soude.

Lipo-vaccin (Le Moignic, Pinoy et Sézary). — Des cultures de dix-neuf heures sur gélose sont émulsionnées dans l'eau physiologique, puis centrifugées à fond ; le culot est additionné d'une préparation huileuse spéciale, stérilisé après vingt-quatre heures (57° pour T ; 60° avec addition d'eugénol, pour A et B) ; le tout est enfin dilué dans un mélange huileux définitif, dont la composition n'est pas précisée. L'opération est menée de telle sorte qu'un centimètre cube de vaccin renferme 2 milligrammes de T, 1,75 milligramme de A et autant de B. Il est pratiqué une seule inoculation de 1 centim. cube.

Bacilles sensibilisés (Besredka). — On s'adresse à un mélange de vaccin (immunisation active) et de sérum (immunisation passive) : émulsionner dans l'eau physiologique une culture sur gélose ; ajouter du sérum agglutinant ; laver à l'eau physiologique et centrifuger plusieurs fois de suite ; recueillir le culot. Stériliser par chauffage à 56° pendant une heure.

Technique. — La technique n'a rien de spécial ; on pratique les inoculations sous la peau dans presque tous les procédés (sauf exceptions indiquées ci-dessus).

Réactions symptomatiques consécutives. — Ces réactions sont très variables comme intensité, parfois extrêmement marquées, le plus souvent tolérables, sinon presque imperceptibles.

Les procédés de Pfeiffer et Kolle, de Neisser et Shiga, de Wassermann provoquent des réactions très vives.

La plupart des autres méthodes, au contraire, ne provoquent le plus souvent pas d'incommodité sérieuse.

Les réactions constatées, de même ordre dans toutes les méthodes, sont essentiellement les suivantes : Localement, au point inoculé, trois à douze heures après l'injection, apparaît une tuméfaction rouge et sensible à la pression : elle persiste trente-six à quarante-huit heures pour disparaître ensuite.

Il peut exister, en outre, des réactions générales : frissons, fièvre, céphalée, fatigue générale, parfois vomissements, diarrhée, dyspnée, etc.

Réactions humorales ; apparition des anticorps. — Comme il était facile de le prévoir, on a constaté que l'organisme humain, vacciné, réagit en produisant les anticorps qui accompagnent habituellement l'infection ou l'immunité : agglutinines, opsonines, substances bactéricides, etc.

Phase négative. — Pendant les quelques jours (trois ou quatre jours) qui suivent les inoculations, on constate parfois une diminution du pouvoir bactéricide, qui précède l'augmentation ultérieure. Cela est dû à ce que les microbes injectés se combinent à une certaine quantité de substance bactéricide et « saturent » partiellement cette dernière. — Parallèlement, Wright a constaté qu'à ce même moment de la vaccination, les sujets inoculés se trouvent parfois en état de moindre résistance et contractent plus facilement la fièvre typhoïde que les sujets non inoculés. C'est ce qu'on a appelé la *phase négative*. — Avec les doses relativement faibles employées à l'heure actuelle, on ne constate plus ni phase négative, ni diminution du pouvoir bactéricide.

Résultats pratiques des vaccinations. — L'effet utile des vaccinations antityphiques est bien démontré.

C'est dans l'armée anglaise des Indes que la vaccination antityphique a été le plus largement appliquée (procédé de Wright-Leishman). Au total, 216 811 hommes non vaccinés ont présenté une morbidité typhique de 21,5 p. 1 000 avec une mortalité de 4,08 ; les vaccinés ont été moins éprouvés : morbidité 7,29 p. 1 000, avec une mortalité de 1,20 (H. Vincent), soit environ trois fois moins de décès parmi les hommes vaccinés.

Les résultats favorables obtenus dans les troupes allemandes de l'Afrique du Sud (procédé de Pfeiffer-Kolle), ceux plus heureux encore enregistrés par Russell aux États-Unis, par H. Vincent et par Chantemesse parmi les troupes des confins algéro-marocains, permirent de confirmer l'efficacité de la vaccination antityphoïdique.

H. Vincent applique ensuite un vaccin mixte TAB, avec les mêmes résultats favorables.

L'histoire épidémiologique de la grande guerre a démontré la haute valeur de la vaccination, en même temps qu'elle a affirmé la nécessité d'employer un vaccin préparé simultanément avec des souches de Bacille typhique et de paratyphiques.

Au début des hostilités (fin 1914 et début de 1915), les états typhoïdes donnaient une morbidité et une mortalité très élevées, menaçant nos effectifs d'une fonte extrêmement rapide qui eût entraîné un désastre.

L'emploi systématique de la vaccination antityphique, commencée en novembre 1914, mais mise régulièrement en pratique en janvier 1915, fit baisser considérablement la morbidité, qui déclina progressivement en avril, mai et juin suivants. Pendant cette période, les examens de laboratoire (Sacquépée, Burnet, Weissenbach) démontrèrent que si les atteintes typhoïdiques proprement dites étaient en diminution, par contre les atteintes paratyphiques A se trouvaient en augmentation progressive depuis mars. D'ailleurs la morbidité se releva en juillet, et les divers laboratoires répondirent à cette époque que les atteintes paratyphoïdes B augmentaient à leur tour (Lebœuf et Braun).

Il était ainsi évident que la vaccination antityphique, efficace contre le Bacille typhique, ne l'était pas contre les infections paratyphoïdes. Et du même coup apparaissait la nécessité de vacciner les hommes, non seulement contre la fièvre typhoïde, mais encore contre les infections paratyphoïdes; autrement dit, il fallait mettre en œuvre trois vaccinations différentes.

Restait à régler la modalité d'application; Widal, se basant sur des recherches personnelles et sur des recherches antérieures, estima qu'il fallait employer « un vaccin mixte, antityphoïdique et antiparatyphoïdique », procédé qui avait l'avantage, sur la méthode des vaccinations successives de limiter au minimum le nombre des injections. Cette suggestion de Widal fut mise en pratique.

En septembre 1915, on commença à employer sur tout le front les vaccinations *antityphoparatyphoïdiques* (vaccin TAB), et en octobre suivant, morbidité recommençait à décroître.

Ce fléchissement ne fit que s'accentuer dans la suite, et à part quelques épisodes ayant montré la nécessité de *revacciner* les troupes un an après la première vaccination (16 mai 1916), on assista à cette observation encore inédite dans l'histoire des guerres, et surtout des guerres de longue durée, à savoir la disparition presque totale des états typhoïdes les armées en campagne.

En même temps, vu les nécessités militaires, les efforts tendaient à restreindre le nombre des injections; de 4 à 5 au début, elles passaient progressivement à 3, puis à 2 (Widal et Salimbeni, H. Vincent). Nous avons vu qu'actuellement, on tend de plus en plus à vacciner en une seule injection, à moins de contre-indication.

L'efficacité incontestable de la vaccination pendant la guerre peut être considérée comme le triomphe de cette méthode prophylactique.

VACCINOTHÉRAPIE.

Divers auteurs ont essayé de traiter l'homme atteint de fièvre typhoïde par des produits analogues ou identiques aux vaccins que nous venons d'étudier. La fièvre typhoïde présentant d'ordinaire une évolution relativement lente, on pouvait supposer que le bénéfice de la vaccination — très appréciable d'ordinaire vers le septième jour après l'injection — serait acquis assez tôt pour aider l'organisme à se défendre.

C'est dans cette idée qu'ont été injectés au malade, sous la peau :

1° Des cultures rendues au préalable inoffensives par l'action d'un courant électrique puissant (Krüger) :

2° Des filtrats de vieille culture en bouillon (Richardson) ;

3° Des cultures tuées par la chaleur. A ce groupe appartiennent la *typhoïne* de Petruschki et les vaccins actuels, employés plus récemment par Smallman, Hollis, Thiroloix, Sacquépée et Chevrel, etc.

Les résultats thérapeutiques paraissent irréguliers : en moyenne, la mortalité et la gravité semblent amoindries. Mais la vaccinothérapie paraît être pour le moment une méthode thérapeutique un peu aveugle.

SÉROTHÉRAPIE.

I. Il est démontré que le *sérum* des *sujets guéris de fièvre typhoïde* présente des propriétés préventives et curatives, d'ailleurs peu développées (Chantemesse et Widal).

Divers auteurs, Hammerschalg, Pollack, etc., mettant à profit cette remarque, ont injecté au malade typhoïdique le sérum de convalescents. Les résultats n'ont pas été encourageants.

II. On obtient facilement des sérums *doués de propriétés préventives et curatives* plus marquées. Il suffit pour cela de vacciner les animaux ; le sérum des animaux vaccinés se montre assez actif.

Le sérum antityphique expérimental, à la dose de $0^{cc},5$, mélangé à une dose mortelle de culture virulente, suffit à préserver la souris. Il est donc préventif. Injecté à plus forte dose (6 centimètres cubes), plusieurs heures après l'inoculation du virus, il se montre curatif (Brieger, Kitasato et Wassermann). Ces faits ont été confirmés maintes fois dans la suite (Beumer et Peiper, Chantemesse et Widal, etc.).

III. Mais quand on a voulu appliquer à l'homme les premiers sérums antityphiques expérimentaux, on a rapidement constaté que la plupart d'entre eux n'avaient pas grande valeur thérapeutique (sérums de Klemperer et Levy, de Beumer et Peiper, etc.). D'après Pfeiffer et Kolle, les sérums étaient trop bactéricides ; détruisant les microbes dans l'organisme, ils mettaient en liberté des toxines et risquaient d'aggraver l'intoxication. Aussi essaya-t-on alors d'obtenir des sérums purement antitoxiques, par inoculation de toxines (essais de Shaw, de Meyer et Bergell, etc.).

Dans la suite, Besredka ayant démontré l'existence d'une endotoxine, il parut indiqué de chercher à produire un sérum antiendotoxique, par inoculation de corps microbiens. Par suite de considérations diverses, les sérums sont donc préparés les uns par inoculation de toxine, d'autres par inoculation de microbes.

IV. ***Sérum de Chantemesse.*** — Le sérum est obtenu en injectant au cheval d'abord la toxine soluble sous la peau, puis des cultures virulentes dans les veines. La préparation est longue.

D'après Balthazard, le sérum de Chantemesse possède des propriétés anti-infectieuses et antitoxiques.

Injecté préventivement (vingt-quatre heures avant) dans le péritoine du cobaye, il protège l'animal contre l'inoculation ultérieure du Bacille d'Eberth dans le péritoine (action anti-infectieuse).

Il est antitoxique, surtout préventivement : inoculé deux à vingt-quatre heures d'avance, il protège le lapin contre l'inoculation de quatre doses mortelles de toxine. Mais l'action curative est peu marquée.

V. ***Sérum de Besredka.*** — Obtenu par inoculation à l'animal de cultures d'abord tuées, puis vivantes.

Expérimentalement, le sérum protège les petits animaux contre l'injection d'endotoxine. Cliniquement, le sérum a été essayé chez l'homme par Montefusco ; l'action paraît avoir été favorable.

VI. ***Sérum de Rodet et Lagriffoul.*** — Obtenu par injections dans les veines de cultures vivantes.

Expérimentalement, le sérum de Rodet et Lagriffoul se montre anti-infectieux et antitoxique. Cliniquement, il a été appliqué à 65 malades, aux doses de 5 à 10 centimètres cubes, qui peuvent être répétées. On a souvent noté une chute rapide de la température. La mortalité chez les sujets traités est de 6,5 p. 100.

CHAPITRE XXXII

BACILLES PARATYPHIQUES ET SALMONELLOSES

Sous le nom commun de *Bacilles paratyphiques*, on désigne deux espèces différentes, *Bacille paratyphique A* et *Bacille paratyphique B*.

Les Bacilles paratyphiques ont été rencontrés pour la première fois chez l'homme par Achard et Bensaude (1896) et différenciés en deux types par Schottmüller, puis par Brion et Kayser.

L'expression de *Bacilles paratyphiques* est mauvaise, — malheureusement elle est consacrée par l'usage, — parce qu'elle enchaîne l'une à l'autre deux espèces certainement distinctes, et parce que l'une d'elles, le Bacille paratyphique B, est identique bactériologiquement avec toute une série d'autres microbes décrits antérieurement sous d'autres dénominations. A la suite de Lignières, il convient de grouper ces derniers microbes, y compris le Bacille paratyphique B, sous le terme générique de *Salmonelloses*.

Nous décrirons successivement :

1° Le Bacille paratyphique A ;

2° Les Salmonelloses (Bacille paratyphique B, Bacilles des empoisonnements alimentaires, etc.).

BACILLE PARATYPHIQUE A.

Le Bacille paratyphique A est l'agent chez l'homme des infections paratyphoïdes type A et de certains ictères.

Les infections paratyphoïdes type A ne se différencient guère de la fièvre typhoïde classique, à Bacille d'Eberth.

MORPHOLOGIE.

1° **Caractères microscopiques**. — Dans les cultures, bâtonnets courts, 3 à 4 μ sur 0,6 à 0,7, le plus souvent ovoïdes, pouvant présenter un espace clair central (aspect bipolaire). Un peu allongés dans les cultures en bouillon.

2° **Mobilité**. — Très mobile (comme le Bacille typhique).

3° **Coloration**. — Se colore facilement par les couleurs d'aniline. *Ne prend pas le Gram.*

4° **Cils.** — Au nombre de quatre à six, plus longs que ceux du Bacille typhique, souvent ondulés, généralement bipolaires.

5° **Spores.** — Ne donne pas de spores.

CULTURES.

Anaérobie facultatif. La température optima est 37°, mais le développement se fait également à la température ambiante.

Même classification des milieux de culture que pour le Bacille typhique (Voy. le tableau p. 478 et 479, et la planche, fig. 214).

I. **Milieux d'usage courant**. — **Bouillon**. — En vingt-quatre heures à 37°, trouble homogène avec ondes moirées. Plus tard, éclaircissement du liquide et formation d'un dépôt. Parfois légère collerette à la surface. Pas d'odeur spéciale.

Gélose inclinée, sérum coagulé. — Comme le Bacille typhique.

Gélatine. — Développement facile, *sans liquéfaction du milieu*. Sur plaques, les colonies superficielles sont arrondies, un peu grisâtres, presque transparentes, mais ne présentent pas les vallonnements caractéristiques du Bacille typhique.

Mêmes caractères sur gélatine en strie.

Pomme de terre. — Culture à peine apparente (comme le Bacille typhique).

Lait. — Végétation abondante; pas de modification appréciable; pas de coagulation.

II **Milieux de recherche**. — Voy. chap. *Bacille typhique*.

II'. **Milieux différentiels. — Milieux sucrés**. — *a*. Milieux lactosés. — Comme le Bacille typhique.

b. Milieux glucosés. — Bouillon glucosé carbonaté. — Culture abondante ; dégagement gazeux très apparent.

Mêmes résultats sur les milieux suivants:

Eau peptonée glucosée carbonatée ;

Eau peptonée glucosée en tube en U (gaz dans la branche anaérobie, fig. 202) ;

Gélose peptonée glucosée (dislocation de la colonne solide).

Solution de Barsiekow glucosée. — Teinte franchement rouge, coagulation rapide (en vingt-quatre heures).

c. On peut substituer à la glucose, avec des résultats identiques, la *lévulose*, la *galactose*, la *mannite*.

Lait tournesolé. — Teinte rouge en vingt-quatre heures, fonce un peu dans la suite. Pas de coagulation.

Petit-lait tournesolé. — Teinte rouge ; peu ou pas de trouble.

Gélose au rouge neutre (pour préparation, voy. chap. *Bacille typhique*). — Développement abondant avec formation de gaz (dislocation) ; décoloration avec fluorescence. Généralement appréciable en vingt-quatre heures.

Milieux vaccinés. — Le Bacille paratyphique A est inapte à se développer dans les milieux où il a déjà cultivé antérieurement.

Il ne se développe pas davantage dans les milieux vaccinés contre le Bacille typhique, le Bacille paratyphique B ou le Colibacille.

Milieux métalliques (pour la préparation, voy. chap. *Bacille typhique*). — Ne noircit pas les milieux additionnés de *sous-acétate de plomb.*

Artichaut. — Ne verdit pas l'artichaut.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Dans les cultures, le Bacille paratyphique A est assez fragile ; la vitalité s'épuise en un à trois mois.

Un chauffage d'une à cinq minutes à 60° suffit à le détruire.

Réactions biochimiques. — Le Bacille paratyphique A fermente énergiquement la glucose, la lévulose, la galactose, la maltose, moins énergiquement la dulcite ; les milieux deviennent acides et il se dégage des gaz (H et CO^2).

Il ne fermente pas sensiblement la lactose et la saccharose.

Recherche de l'indol. — Le Bacille paratyphique A ne forme pas d'indol.

Action des antiseptiques et de la bile. — Comme pour le Bacille typhique.

Réactions à l'égard des sérums. — Agglutination. — Les *sérums de malades* atteints n'ont souvent qu'une action faible sur le Bacille infectant.

Au contraire, *les sérums expérimentaux sont rigoureusement spécifiques* ; ils agglutinent à peu près au même taux tous les échantillons de l'espèce, sans avoir d'action appréciable sur les espèces les plus voisines (Bacille d'Eberth et Bacille paratyphique B). — De même, le Bacille paratyphique A n'est que très peu ou pas agglutiné par les sérums spécifiques pour ces deux dernières espèces.

Le sérum expérimental sera utilisé avec profit pour le diagnostic du microbe.

Sensibilisatrice. — Dans les sérums faibles, il existe une sensibilisatrice spécifique. Dans les sérums forts, on trouve, outre la sensibilisatrice précédente, une cosensibilisatrice active (hémolyse incomplète, voy. chap. IV) sur le Bacille d'Eberth et le Bacille para-

typhique B (Rieux et Sacquépée). Éventuellement, la réaction de Bordet-Gengou peut être utilisée pour contrôler un diagnostic.

POUVOIR PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles. — Chez l'homme, voy. p. 516.

Dans les conditions naturelles, le Bacille paratyphique A n'a pas été signalé jusqu'ici au cours de maladies des animaux.

Expérimentalement. — La *virulence* est variable, généralement plus forte que celle du Bacille typhique.

Un échantillon non renforcé, injecté sous la peau, tue les souris à la dose de $0^{cc},33$; le cobaye, à dose de 4 centimètres cubes (Brion et Kayser).

On peut exalter le virus par inoculation sous-cutanée en série; le virus exalté arrive à tuer le cobaye à la dose de $0^{cc},5$ de culture en bouillon après vingt-quatre heures (Sacquépée et Chevrel).

La souris est sensible à l'ingestion (Kempf).

SIÈGE.

Le Bacille paratyphique A est peu répandu.

Certains auteurs signalent sa présence chez divers animaux (cobaye) à l'état normal.

A l'état pathologique, chez l'homme, le Bacille paratyphique A se rencontre dans le sang et dans tous les tissus, au cours des infections générales qu'il provoque.

On le rencontre en outre parfois dans l'intestin (embarras gastrique, ictère) et dans les voies biliaires (cholécystites).

TOXINES.

Toxines. — Les cultures en bouillon de virus exalté, stérilisées par la chaleur ou filtrées, se montrent toxiques pour le cobaye aux doses de 3 à 10 centimètres cubes, par injection sous la peau.

Il existe donc une toxine soluble.

Vaccinations. — Chez l'animal, on vaccine facilement le cobaye et le rat blanc contre l'inoculation de doses plusieurs fois mortelles; on ne réussit pas chez le lapin.

Les animaux vaccinés se montrent généralement moins sensibles que les témoins à l'inoculation du Bacille typhique (intervaccination).

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

La marche à suivre et les procédés à employer sont exactement les mêmes que pour le Bacille typhique.

VACCINATION.

Vaccination. — Voir *B. Typhique*, art. *Vaccination.*

SALMONELLOSES. — BACILLE PARATYPHIQUE B.

I. Au point de vue bactériologique, il est actuellement impossible de différencier les uns des autres des agents pathogènes rencontrés au cours d'affections pourtant disparates: le Bacille paratyphique B, agent chez

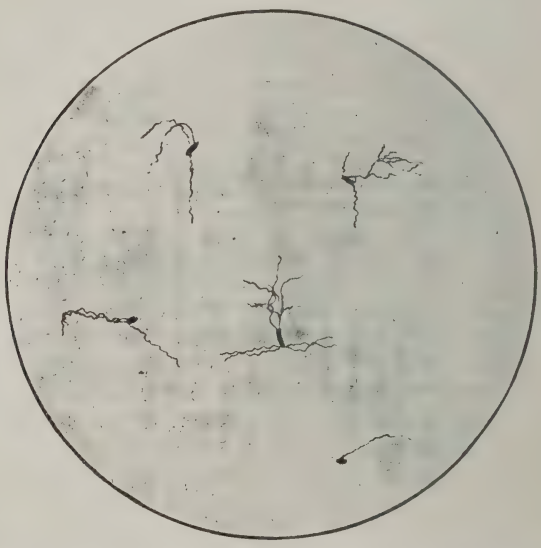


Fig. 208. — Cils de Bacille paratyphique B. Coloration par le procédé de Zettnov.

l'homme des infections paratyphoïdes; le Bacille de la psittacose: le *B. typhi murium* de Löffler; le Virus Danysz; le Bacille de la septicémie des veaux de Thomassen.

II. Au même groupe appartient le Bacille décrit par Salmon sous le nom de Bacille u hog-choléra (pneumo-entérite épidémique du porc): d'où le terme générique de *Salmonelloses.*

III. On est également obligé de faire rentrer dans le groupe des Salmonelloses un grand nombre de microbes rencontrés, depuis Gärtner, au cours des épidémies d'empoisonnements alimentaires, et désignés en bloc sous le nom de *Bacilles des empoisonnements alimentaires.*

Parmi ces derniers, un certain nombre, appartenant au *type Aertrycke*, ne se différencient pas sensiblement des autres salmonelloses (entre autres le Bacille paratyphique B); d'autres, appartenant au *type Gärtner*, tout en présentant les mêmes caractères généraux que les précédents, se séparent cependant par leurs réactions à l'égard des sérums spécifiques.

Nous étudierons d'abord le Bacille paratyphique B, en comprenant sous cette désignation le Bacille rencontré chez l'homme dans les infections paratyphoïdes B et le Bacille type Aertrycke (ou type paratyphique B) des empoisonnements alimentaires. Nous dirons ensuite quelques mots des Bacilles du hog-choléra, de la psittacose, des virus des rongeurs et du Bacille de Gärtner.

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — Le Bacille paratyphique B se présente sous forme de bâtonnets courts, ovoïdes (comme le Bacille paratyphique A). La coloration bipolaire (aspect en navette) est particulièrement fréquente.

Coloration, cils, spores. — Les caractères sont exactement les mêmes que pour le Bacille paratyphique A (Voy. p. 516).

CULTURES.

Caractères généraux. — Le Bacille paratyphique B est anaérobie facultatif. La température optima de développement est 37°, mais les cultures se font bien également à la température ambiante (Voy. tableau p. 478 et 479, et planche fig. 214).

1. **Milieux d'usage courant**. — **Bouillon**. — Mêmes caractères que le Bacille paratyphique A. Toutefois certains échantillons dégagent une odeur fécaloïde.

Gélose inclinée. — La culture est abondante, sous forme d'un enduit épais, opaque, souvent visqueux (parfois plus discrète, moins opaque).

Gélatine. — Développement facile; *le milieu n'est pas liquéfié*.

Sur plaques, après quatre jours, les colonies atteignent 4 millimètres; elles sont brillantes, un peu opaques. Les colonies profondes sont blanchâtres et opaques.

En strie, la plupart des échantillons donnent un enduit abondant, visqueux, opaque, blanc jaunâtre. Mais parfois la culture est plus discrète et transparente.

En piqûres, disque à la surface, très variable comme aspect, généralement blanc, opaque. Petites colonies blanc jaunâtre en profondeur.

Pomme de terre. — La culture est abondante, épaisse, brunissant rapidement. Exceptionnellement, culture maigre, analogue à celle du Bacille typhique.

Lait. — Développement abondant. Il n'y a pas de modification

apparente au début ; plus tard, vers la deuxième semaine, le milieu s'éclaircit (opalescence) et prend une teinte brunâtre. Ces deux caractères s'accusent davantage par la suite.

Le lait n'est jamais coagulé.

II. **Milieux de recherche.** — Voy. chap. *Bacille typhique.*

III. **Milieux différentiels. — Milieux lactosés.** — Mêmes caractères que le Bacille typhique (pas de fermentation apparente (chap. *Bacille typhique*).

Milieux glucosés. — Mêmes caractères que le Bacille paratyphique A (fermentation apparente, p. 517).

Autres milieux sucrés. — Vis-à-vis des milieux *lévulosés*, *galactosés*, *mannités*, le Bacille paratyphique B se comporte comme à l'égard des milieux glucosés.

Lait tournesolé. — Au début (premières heures), la teinte vire un peu au rouge (acidité), puis revient à son état initial, et finalement vire au bleu (alcalinisation) : *caméléonage* du lait. La teinte bleue commence à apparaître en général du troisième au sixième jour et fonce ensuite de plus en plus.

Petit-lait tournesolé. — Le milieu devient trouble. La teinte, très passagèrement rosée au début, passe rapidement au bleu (alcalinisation), en général du premier au quatrième jour.

Gélose au rouge neutre. — Mêmes caractères que le Bacille paratyphique A (fluorescence, décoloration, dégagement gazeux).

Milieux vaccinés. — Irrégulier ; sur milieu vacciné contre un échantillon de Bacille paratyphique B, certains échantillons cultivent et d'autres pas.

Par contre, le Bacille paratyphique B se développe bien sur les milieux vaccinés contre les Bacilles typhiques ou paratyphiques A.

Milieux métalliques. — Noircit en un à trois jours la gélose additionnée de *sous-acétate de plomb.*

Artichaut. — Verdit l'artichaut en deux à trois jours.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Dans les cultures, le Bacille paratyphique B est très résistant ; des cultures âgées de plus de six mois et même un an sont d'ordinaire réensemencées avec succès.

Par contre, il résiste peu à la chaleur ; cinq minutes de chauffage à 60° le tuent sûrement.

Réactions biochimiques. — Action sur les sucres. — Le Bacille paratyphique B possède exactement les mêmes propriétés

fermentatives que le Bacille paratyphique A ; ces propriétés sont toutefois un peu plus développées.

Recherche de l'indol, — Le Bacille paratyphique B ne produit généralement pas d'indol ; cependant de rares échantillons en donnent quelques traces.

Action des antiseptiques et de la bile. — Comme le Bacille typhique.

Réactions à l'égard des sérums. — **Agglutination**. — I. Tous les Bacilles paratyphiques ne sont pas également agglutinables. Certains le sont très peu ; d'autres le sont trop. Pour éviter toute erreur d'appréciation, on s'adressera à des échantillons bien vérifiés.

II. On se souviendra que les sérums normaux agglutinent parfois à 1 p. 80.

III. *Au cours des infections à Bacille paratyphique B, le sérum agglutine nettement* le Bacille paratyphique B vers les cinquième ou sixième jours ; le pouvoir agglutinant suit la même évolution que dans la fièvre typhoïde. Le taux limite d'agglutination est d'ordinaire assez élevé, 1 p. 500 et bien au delà, même jusque 1 p. 40 000 (Korte). Ces mêmes sérums humains n'ont que peu ou pas d'action sur le Bacille typhique.

IV. Mais il est établi, par contre, que le Bacille paratyphique peut être agglutiné fortement *par le sérum de malades atteints de fièvre typhoïde* (à Bacille d'Eberth), parfois autant et même plus que le Bacille typhique lui-même.

V. Les *sérums expérimentaux*, obtenus comme les sérums antityphiques, agglutinent fortement le Bacille paratyphique B ; mais les divers échantillons de l'espèce sont agglutinés à des taux assez inégaux.

Ces mêmes sérums expérimentaux n'agglutinent pas sensiblement les Bacilles voisins (Bacille d'Eberth et Bacille paratyphique A). Inversement, le Bacille paratyphique B n'est pas agglutiné par les sérums spécifiques pour les Bacilles voisins.

Aussi l'agglutination doit-elle éventuellement être utilisée pour le diagnostic de l'espèce microbienne.

Sensibilisatrice. — Les sérums de malade et les sérums expérimentaux dévient le complément en présence du Bacille paratyphique B, mais le dévient également en présence du Bacille d'Eberth ; la sensibilisatrice n'est donc pas strictement spécifique (Rieux et Sacquépée).

ACTION PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles. — Le Bacille paratyphique B détermine diverses affections chez l'homme et chez l'animal.

Chez l'homme. — Il provoque surtout deux séries d'accidents.

En premier lieu, les infections paratyphoïdes B, infections qui rappellent par leurs symptômes et leur évolution tantôt la fièvre typhoïde à Bacille d'Eberth, tantôt l'embarras gastrique fébrile.

En deuxième lieu, certains cas d'empoisonnements alimentaires à forme gastro-intestinale.

En outre, il peut déterminer l'ictère catarrhal, des abcès, etc.

Chez l'animal. — Un certain nombre de syndromes morbides sont déterminés par le Bacille paratyphique B. La question a été étudiée surtout à propos des empoisonnements alimentaires provoqués par la viande d'animaux malades, c'est ainsi qu'on a rencontré le Bacille paratyphique B chez les veaux atteints de diarrhée, d'arthrites; chez les vaches, dans la mammite; chez le cheval, dans les abcès; chez diverses espèces, au cours de septicémies sans manifestations extérieures apparentes.

Action pathogène expérimentale. — Les Bacilles paratyphiques B comptent parmi les microbes les plus pathogènes que nous connaissions.

Ils présentent ceci de particulièrement intéressant que la simple ingestion suffit à provoquer une maladie mortelle chez l'animal, sans aucun artifice expérimental surajouté.

Inoculation. — Par voie *sous-cutanée*, les Bacilles paratyphiques B tuent le *cobaye* à la dose de 1/2, 1/4 et même 1/40 de centimètre cube de culture de vingt-quatre heures en bouillon; à la dose de 1/10 et même 1/100 d'anse de culture sur gélose. Au point d'inoculation se forme souvent un abcès (Widal et Nobécourt).

Par voie *intrapéritonéale*, les doses mortelles sont beaucoup moins élevées : 1/1 000 à 1/100 000 d'anse de culture sur agar, alors que la dose mortelle de Bacille typhique est au moins 1/30 à 1/100 d'anse (Kutscher et Meinicke).

Quelle que soit la voie d'inoculation, on constate souvent pendant la vie de la diarrhée, des parésies, de la fièvre ou de l'hypothermie.

A l'autopsie des animaux, il existe habituellement des suffusions sanguines des voies digestives, de l'hypertrophie de la rate, parfois de l'entérite ulcéreuse; le Bacille se retrouve dans le sang, les organes, l'intestin.

La *souris* est aussi sensible que le cobaye. Le *lapin*, le *rat blanc*, le *chien*, sans être réfractaires, sont moins réceptifs.

Ingestion. — Une seule ingestion de *Bacilles paratyphiques B*

provenant des infections paratyphoïdes suffit à provoquer chez le *cobaye* une affection mortelle en cinq à vingt jours (Sacquépée et Chevrel). A l'autopsie, on constate de l'entérite diarrhéique, de la tuméfaction des follicules clos, de l'hypertrophie de la rate. L'examen histologique décèle une infiltration embryonnaire des plaques de Peyer et de la sous-muqueuse voisine, et de la nécrose superficielle de l'intestin grêle.

Besredka a montré que le *lapin*, normalement réfractaire à l'action du Bacille paratyphique B par ingestion, devient au contraire sensible à l'infection par la même voie, lorsqu'on lui fait ingérer de la bile, soit avec soit avant la culture microbienne.

Les *Bacilles paratyphiques B provenant des empoisonnements alimentaires* sont au moins aussi actifs. Par ingestion, ils tuent la *souris*, le *cobaye*, le *chien*, le *lapin*, le *veau* (Basenau), et provoquent chez le *singe* une maladie identique à l'empoisonnement alimentaire de l'homme (van Ermengem). A l'autopsie, on trouve le microbe dans la plupart des organes.

Par erreur (van Ermengem) ou expérimentalement (Poels et Dhont), un certain nombre de personnes ont ingéré de la viande d'animaux inoculés avec un Bacille d'empoisonnements alimentaires : la plupart présentèrent de la gastro-entérite.

TOXINES.

La faculté de sécréter des poisons solubles, *thermostabiles* (résistant à la chaleur), est à peu près générale pour tous les Bacilles paratyphiques B. Elle paraît toutefois être portée à un plus haut degré chez les Bacilles des empoisonnements alimentaires.

1° Le Bacille provenant des infections paratyphoïdes, cultivé en bouillon Martin, donne des cultures qui, stérilisées par la chaleur ou par filtration, tuent le cobaye à doses de 3 à 9 centimètres cubes, sous la peau (Sacquépée et Chevrel). Franchetti constate également le pouvoir toxique, tant du filtrat des cultures en bouillon que de l'autolysat des Bacilles émulsionnés dans l'eau distillée.

2° Les Bacilles provenant des empoisonnements alimentaires sécrètent une toxine qui passe dans le filtrat (Drigalski).

Ils présentent une autre propriété importante : leurs cultures demeurent toxiques après l'action de la chaleur, même intense ou prolongée. Ainsi le filtrat d'une culture, chauffé à 100° pendant trente minutes, ne perd rien de son activité (Fischer).

SIÈGE.

Les Bacilles paratyphiques B peuvent être rencontrés : 1° chez l'homme; 2° chez les animaux; 3° dans les milieux extérieurs.

1° **Bacille paratyphique B chez l'homme.** — A. Il existe tout d'abord *chez l'homme malade.*

a. Au cours des infections paratyphoïdes, il se rencontre dans le sang, si l'infection est un peu sévère, et dans tous les organes. On le trouve également dans l'intestin, parfois dans les urines.

b. Dans les empoisonnements alimentaires, le Bacille paratyphique B reste localisé à l'intestin. On ne le trouve que rarement dans le sang.

c. D'autres processus pathologiques peuvent être dus au Bacille paratyphique B : ictères (bacille dans les fèces), abcès, etc.

B. On peut le déceler *chez des individus sains.*

a. Les anciens malades, guéris d'infections paratyphoïdes, peuvent continuer à excréter le bacille pendant plusieurs mois et même plusieurs années (*porteurs de bacilles*, selles ou urines).

b. Exceptionnellement, et d'une manière tout à fait transitoire, on peut rencontrer le même germe dans l'intestin de sujets qui, sans avoir été atteints antérieurement d'infection paratyphoïde, se sont trouvés au contact des malades, ou bien ont ingéré un aliment contaminé (Conradi).

2° **Bacille paratyphique B chez l'animal.** — A. *Au cours des processus pathologiques* divers énumérés plus haut (arthrite et entérite des veaux, etc.), on trouve le Bacille paratyphique B d'abord dans les lésions locales si elles existent; dans le tube digestif; enfin dans le sang, les viscères et les organes. Il peut se développer *in situ* et constituer dans les capillaires des amas de microbes formant embolie (Gärtner).

B. On rencontre parfois des microbes identiques au Bacille paratyphique B *chez des animaux sains* : chien, cobaye, porc; généralement dans l'intestin. Par exception, on pourrait le trouver dans la viande, saine par ailleurs, d'animaux abattus, mais le fait est douteux.

3° **Bacille paratyphique B dans les milieux extérieurs.** — A. On l'a rencontré *dans certaines eaux*, eaux de rivière, eaux de puits. L'eau est d'ailleurs un des véhicules des infections paratyphoïdes.

B. Sa présence *dans les aliments* est moins rare. C'est ainsi qu'on l'a trouvé à maintes reprises dans la viande et les abats (viscères) de boucherie (Gärtner, van Ermengem, Trautmann, etc.) : dans les produits de charcuterie (de Nobelé, van Ermengem, etc.); parfois dans les crèmes; plus rarement dans les légumes. Ces divers aliments sont eux-mêmes infectés, soit parce qu'ils proviennent d'animaux malades, soit parce qu'ils ont été contaminés après l'abatage. Ce sont de tels aliments qui provoquent chez l'homme les empoisonnements alimentaires.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le procédé de choix est l'hémoculture. A défaut, on cherchera le microbe dans les excreta, mais on aura soin de contrôler son

action pathogène par la constatation du pouvoir agglutinant du sérum.

I. **Hémoculture.** — On suivra exactement la même technique et on observera les mêmes précautions que pour le Bacille d'Eberth (V. Chapitre *Analyses bactériologiques*), *mutatis mutandis*.

II. **Recherche dans les excreta.** — De même que dans le cas précédent, on opérera comme pour le Bacille d'Eberth.

III. **Sérodiagnostic (agglutination).** — *a.* En cas d'infections paratyphoïdes : voy. *Bac. typhique*, art. *La réaction de Widal.*

b. En cas d'empoisonnements alimentaires, le problème est plus limité ; un pouvoir agglutinant élevé pour le Bacille paratyphique B est l'indication certaine d'une infection par ce Bacille.

VACCINATION.

Etude expérimentale. — Chez l'animal, en injectant à plusieurs reprises des cultures tuées, on vaccine assez facilement les animaux de laboratoire (cobaye, rat blanc, lapin) contre une dose plusieurs fois mortelle de Bacille paratyphique B.

Vaccination chez l'homme. — Voir *B. typhique*, art. *Vaccination chez l'homme.*

Bacille de la psittacose.

Nocard (1892) a découvert ce Bacille chez des perroquets importés, atteints d'une maladie infectieuse mortelle. Gilbert et Fournier (1896) l'ont retrouvé dans un cas de psittacose humaine.

Toutes les propriétés autres que l'action pathogène sont identiques à celles du Bacille paratyphique B.

Pouvoir pathogène. — 1° Chez l'homme : affection généralement grave, présentant les allures ou d'une fièvre continue, ou d'une pneumonie.

La maladie se transmet du perroquet à l'homme.

L'homme se contagionne soit directement, par gavage de bec à bouche, soit indirectement, par ingestion ou inhalation de poussières provenant d'excréments desséchés, des plumes, etc.

2° Chez l'animal : les cultures, inoculées dans les veines ou le péritoine des perroquets, provoquent une infection mortelle en quelques jours ; pendant la vie, l'animal se tient en boule, yeux clos, somnolent, les ailes pendantes; diarrhée. A l'autopsie, Bacille dans tous les organes. Chez le même animal, les inoculations sous-cutanées sont moins sévères.

La réceptivité n'est d'ailleurs pas spéciale au perroquet : la souris, le lapin, la poule sont également très sensibles aux inoculations. Le cobaye peut être infecté par simple ingestion (Böhme).

Bacille du hog-choléra.

Prototype des Salmonelloses, ce Bacille a été décrit par Salmon (1886) comme étant l'agent pathogène du hog-choléra (choléra du porc).

Depuis lors, et jusqu'à ces derniers temps, il avait gardé aux yeux des bactériologistes la même spécificité; sa présence à peu près constante à l'autopsie des animaux atteints, la ressemblance frappante des lésions provoquées expérimentalement avec les lésions constatées naturellement ne laissaient guère de doute à ce sujet.

Mais des expériences multiples (Dorset, Schweinitz, Carré, Leclainche et Vallée, etc.) ont depuis lors démontré que le hog-choléra est certainement dû à un virus filtrant et invisible.

Des expériences de Lourens et de Gläser permettraient de supposer que c'est le Bacille du hog-choléra lui-même, réduit en granules, qui passe à travers les filtres. L'hypothèse paraît improbable.

Toutes les propriétés autres que l'action pathogène sont identiques à celles du Bacille paratyphique B.

Pouvoir pathogène. — A. Chez l'homme, il est probable que le Bacille du hog-choléra est l'agent des intoxications alimentaires provoquées par la viande de porc (Pouchet, Rocchi).

B. Chez l'animal, le microbe se rencontre au cours du hog-choléra du porc, probablement à titre d'agent infectieux surajouté (infection secondaire), mais non spécifique.

C. Expérimentalement, le *lapin*, la *souris* sont très réceptifs. Les inoculations se montrent souvent pyogènes (au point d'inoculation); mort en quelques jours avec foyers de nécrose dans les organes, foie surtout, souvent bronchopneumonie; septicémie généralisée.

Le *porc*, peu sensible à l'injection sous-cutanée, l'est davantage à l'injection intraveineuse et à l'ingestion. Les symptômes et lésions sont identiques à ceux du *hog-choléra* : noyaux d'infarctus pulmonaire et de bronchopneumonie; congestion de l'intestin avec hypertrophie et ulcération des plaques de Peyer (analogie avec la fièvre typhoïde humaine).

Le *cobaye* est un peu moins réceptif.

Virus des rongeurs.

Pour des raisons diverses, économiques (dégâts commis par les rats) ou hygiéniques (prophylaxie de la peste et de la suette miliaire), on s'est efforcé de détruire les rats, spécialement en leur faisant ingérer des cultures microbiennes de *virus des rongeurs*. Ces virus ont été isolés au cours d'épizooties survenues spontanément chez les souris (Löffler), les campagnols ou *Mus decumanus* (Danysz). D'autres microbes analogues sont utilisés dans le même but : *Ratinbacillus*, *Liverpoolvirus*.

Ces différents virus des rongeurs présentent tous les caractères des Salmonelloses (Voy. *Bacille paratyphique B*).

Les réactions d'agglutination permettent d'identifier le virus de Löffler avec le bacille paratyphique B; les mêmes réactions rapprochent le virus Danysz du Bacille de Gärtner.

A plusieurs reprises, le virus de Löffler a provoqué des accidents sérieux chez des personnes qui l'avaient ingéré par erreur (Trommsdorf, Shibayama).

Virus Danysz. — Il est nécessaire de « spécialiser » la virulence du microbe à l'égard de l'espèce de rat qu'on veut combattre. Dans ce but, on pratique alternativement des passages sur la souris, par ingestion (recueillir le Bacille dans le sang du cœur) et, en sacs de collodion, dans le péritoine du rat. Quand la virulence (par ingestion) est assez exaltée,

on substitue à la souris le rat qu'on veut combattre (*Mus rattus* ou *Mus decumanus*), en débutant par des animaux jeunes pour continuer par des rats de plus en plus âgés; même technique que pour la souris. Dix à douze passages suffisent pour obtenir la virulence voulue.

Pour l'emploi, le virus est expédié en bouteilles; on y projette des fragments de pain (ou de l'avoine) qui absorbent les Bacilles et sont ensuite projetés sur le sol. Les rats ingèrent le poison avec son support et périssent d'ordinaire en grand nombre.

Bacille de Gærtner.

Le Bacille de Gärtner, ou *Bacillus enteritidis*, est un des agents les plus fréquents des empoisonnements alimentaires; c'est la seule manifestation pathologique qui lui appartienne habituellement chez l'homme. On le rencontre en outre chez l'animal au cours de diverses maladies : diarrhée, septicémie (veaux), métrite (vache), etc.

Ses propriétés morphologiques, culturales, biologiques, de même que ses aptitudes pathogènes, sont exactement celles du Bacille paratyphique B. Seules les *réactions à l'égard des sérums* le séparent de ce dernier. Les sérums spécifiques, humains ou expérimentaux agglutinent le Bacille de Gärtner, sans exercer d'action appréciable sur le Bacille paratyphique B (quelques exceptions pour les sérums humains); et inversement, les sérums spécifiques pour le Bacille paratyphique B n'agglutinent pas le Bacille de Gärtner.

On établira le diagnostic bactériologique de l'infection par la recherche du Bacille dans les excreta et par l'étude des propriétés du sérum sanguin.

CHAPITRE XXXIII

COLIBACILLE

Le Colibacille a été isolé pour la première fois par Escherich (1885) des selles du nouveau-né ; il est constamment présent dans l'intestin humain (gros intestin surtout), d'où ses diverses désignations : *Colibacille*, *Bacterium coli*, *Bacillus coli communis*, *Bacille d'Escherich*.

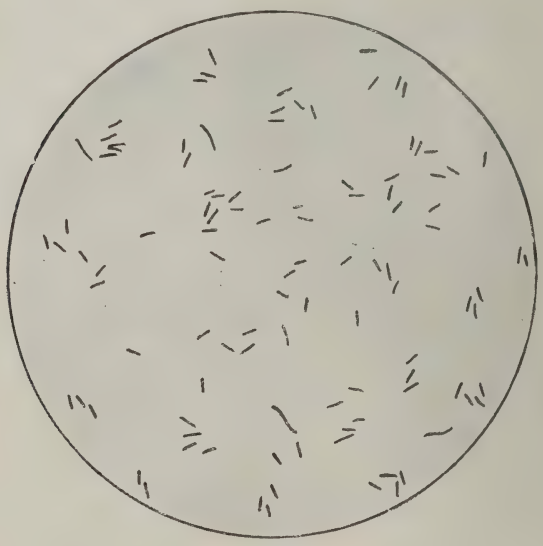


Fig. 209. — Colibacille. Culture en bouillon.

Il est extrêmement répandu chez l'homme, chez les animaux et dans tous les milieux. Le plus souvent réduit à l'état de simple saprophyte inoffensif, il devient parfois pathogène tant pour l'homme que pour l'animal.

Le Colibacille constitue une « mauvaise espèce », c'est-à-dire une espèce bactériologique dont les divers représentants peuvent pré-

senter des propriétés assez variables. Les seules bases de classification résident dans leurs caractères microscopiques et dans leurs caractères de culture. Encore les réactions culturales sont-elles assez souvent atypiques à certains égards ; à ces Colibacilles atypiques on donne généralement le nom de *Paracolibacilles* (Gilbert et Lion). Nous dirons en temps utile quelques mots de ces Colibacilles aberrants.

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — Identiques à ceux du Bacille typhique. L'aspect bipolaire et la forme coccobacillaire sont toutefois plus fréquents.

Mobilité. — Elle est très variable ; la plupart du temps, le Colibacille est nettement mobile, beaucoup moins cependant que le Bacille typhique. Certains échantillons sont très mobiles ; d'autres, au contraire, complètement immobiles.

Cils. — Peu nombreux, quatre à six, rarement plus ; courts, assez souvent insérés aux deux pôles.

Spores. — Le Colibacille ne donne pas de spores.

CULTURES.

Les conditions générales de développement sont les mêmes que pour le Bacille typhique. Toutefois le développement est souvent plus précoce et plus luxuriant(Voy. tableau p. 478 et 479 et fig. 214).

I. **Milieux d'usage courant. — Bouillon.** — Comme le Bacille typhique. En plus, il existe souvent une mince pellicule à la surface. Odeur fécaloïde le plus souvent.

Eau peptonée. — Comme en bouillon.

Gélose inclinée. — Comme le Bacille typhique. Parfois la profondeur du milieu dégage des gaz, par suite de la fermentation des traces de glucose contenues dans toute viande.

Sérum coagulé. — Comme sur gélose.

Gélatine. — Culture abondante ; *le milieu n'est pas liquéfié.*

Certains échantillons donnent un aspect identique à celui du Bacille typhique, sur plaques, en strie et par piqûres.

La plupart des échantillons donnent une culture différente.

Sur plaques. — Les colonies superficielles sont opaques, luisantes, un peu plus larges que celles du Bacille typhique. Les colonies profondes, comme le Bacille typhique.

En strie. — Enduit opaque blanc, parfois visqueux ; les bords sont souvent minces et transparents.

En piqures. — Disque blanc, luisant à la surface; ce disque peut atteindre les bords du tube. Dans la profondeur, colonies petites, opaques, souvent confluentes.

Pomme de terre. — Presque toujours il se forme un enduit saillant, jaunâtre ou brunâtre. Exceptionnellement, la culture est minime, comme celle du Bacille typhique.

Lait. — Développement abondant; *coagulation* en un temps variable, vingt-quatre ou quarante-huit heures en moyenne, mais parfois plusieurs jours.

II. **Milieux de recherche.** — Voy. *Procédés de recherche du Bacille typhique.*

III. **Milieux différentiels. — Milieux lactosés.** — Bouillon lactosé carbonaté. — Dégagement de gaz en douze à vingt-quatre heures, parfois plus tôt.

Gélose lactosée. — Même résultat; dislocation du milieu.

Eau peptonée lactosée en tube en U. — Dégagement abondant de gaz dans la branche anaérobie.

Solution de Barsiekow lactosée. — Coloration rouge et coagulation en vingt-quatre heures, parfois davantage.

Autres milieux sucrés. — Les milieux *glucosés*, *lévulosés*, *galactosés*, *maltosés* donnent les mêmes résultats que les milieux lactosés.

Lait tournesolé. — La teinte initiale vire nettement au rouge en vingt-quatre heures; le milieu est coagulé.

Petit-lait tournesolé. — Vire nettement au rouge en vingt-quatre heures; le milieu est trouble.

Gélose au rouge neutre. — Comme les Bacilles paratyphiques : fluorescence, décoloration, dislocation,

Autres milieux colorés. — Vire au rouge le milieu de Ramond. Vire au bleu le milieu de Robin.

Milieux vaccinés. — Le Colibacille se développe sur milieux vaccinés contre le Bacille typhique ou les Bacilles paratyphiques (ce caractère peut être en défaut tout à fait exceptionnellement).

Milieux métalliques. — Ne noircit pas les milieux au *sous-acétate de plomb* (quelques exceptions).

Artichaut. — Le Colibacille verdit rapidement (Roger).

Bouillon arsenical. — Le Colibacille s'y développe.

Milieux minéraux. — Le Colibacille végète dans la plupart d'entre eux (Voy. *Liquides d'Ouchinsky, de Fraenkel et Voges*).

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — A l'égard de la chaleur, la résistance du *B. coli* est la même que celle du Bacille typhique.

Dans les cultures, il se montre plus robuste que ce dernier.

Si on ensemence en même temps les deux microbes dans un même milieu, on ne retrouve plus que le Colibacille après quelques jours.

D'après Rémy, dans l'expérience précédente, les deux microbes se modifient, le coli perd ses propriétés fermentatives et ne donne plus d'indol.

On peut considérer que le Bacille coli fait partie de la flore normale du sol et de certaines eaux; sa vitalité y serait donc considérable.

Réactions biochimiques. — Action sur les sucres. — Le Colibacille fermente la plupart des sucres (Chantemesse et Widal, Péré) : lactose, glucose, lévulose, galactose, maltose, mannite, glycérine ; beaucoup d'échantillons fermentent la saccharose, d'autres fermentent la dulcite.

A titre d'indication, nous signalons la classification de Mac Conkey, basée sur l'existence ou l'absence de propriétés fermentatives à l'égard de la dulcite et de la saccharose :

	Saccharose.	Dulcite.
Bacillus communior	+	+
— communis	—	+
— aerogenes	+	—
— acidi lactici	—	—

La *fermentation de la glucose*, prise comme type, donne naissance :

a. A des acides, surtout acide lactique, acide acétique, un peu d'acide formique. Le Colibacille du nourrisson donne l'acide lactique lévogyre ; celui de l'adulte, l'acide lactique dextrogyre (Péré) ;

b. A des gaz, formés surtout d'hydrogène (les deux tiers), d'acide carbonique et un peu de gaz des marais.

Les propriétés fermentatives du Colibacille sont largement utilisées dans les milieux de culture différentiels (Voy. chap. *Bacille typhique*). Ces milieux mettent en évidence soit la formation d'acides, soit la production de gaz.

Certains échantillons peuvent perdre apparemment leurs propriétés fermentatives, spécialement vis-à-vis de la lactose. La plupart du temps, cette propriété persiste, mais très atténuée ; le dosage de la lactose permet de constater une légère attaque (Grimbert et Legros).

Action dénitrifiante. — Identique à celle du Bacille typhique.

Formation d'indol. — Le Colibacille type donne toujours de l'indol aux dépens des peptones.

Réaction à l'égard des sérums. — Agglutination. — Le Colibacille est agglutiné par certains sérums.

I. Le *sérum normal*, humain ou animal, n'agglutine pas chez le nouveau-né, alors qu'il agglutine presque toujours chez l'adulte (Pfaundler) ; mais le taux d'agglutination dépasse rarement 1 p. 60.

II. Les *sérums provenant de malades infectés* par le Colibacille ou *d'animaux inoculés* avec ce microbe, agglutinent ordinairement le Colibacille à des taux élevés (1 p. 500 et plus). Cette agglutination est presque toujours strictement *homologue*, c'est-à-dire que chaque sérum agglutine l'échantillon infectant, sans exercer d'action appréciable sur les autres Colibacilles.

Ainsi le sérum de malades atteints de cystite colibacillaire agglutinera le Colibacille isolé de cette cystite, mais n'agglutinera pas d'autres Colibacilles, même pas ceux provenant de l'intestin du même sujet ou ceux isolés dans d'autres cas de cystite.

Cependant Lesage a soutenu que, dans une même épidémie de diarrhées infantiles, le sérum de tous les malades agglutine le Colibacille isolé des selles de n'importe quel malade. Le fait, confirmé par Valagussa, est contesté par Nobécourt ; on peut en conclure que l'observation de Lesage s'applique seulement à certains épisodes, analogues sans doute aux empoisonnements alimentaires ; ces derniers, exceptionnellement, sont colibacillaires et les sérums de tous les malades sont actifs sur les Bacilles de tous les malades, et *vice versa* (Haibe).

III. Le *sérum des typhiques* n'agglutine pas les races de *B. coli* conservées dans les laboratoires (P. Courmont et Lesieur) ; mais il agglutine presque toujours le Colibacille provenant de l'intestin du malade (Sacquépée).

ANOMALIES DU COLIBACILLE. — PARACOLIBACILLES.

Un certain nombre de microbes présentent l'ensemble des attributs du Colibacille, mais se séparent de l'espèce type par un ou deux caractères essentiels. Depuis Gilbert et Lion, on les appelle communément *Paracolibacilles*.

On a étendu dans la suite très abusivement le groupe des Paracolibacilles. On y trouvait confondus à un moment donné le Bacille de la psittacose, le Bacille du hog-choléra, le *B. lactis aerogenes*, le *B. fæcalis alcaligenes*, etc., aujourd'hui considérés comme formant des espèces distinctes. Il convient de limiter le groupe et de ne pas en faire un *caput mortuum* de la bactériologie.

Les types les plus répandus sont les suivants :

1° Type immobile. Le plus bel exemple est le Colibacille rencontré dans l'endocardite infectieuse par Gilbert et Lion ; ce Colibacille, inoculé aux animaux, produit de l'endocardite, de l'aortite et de la méningite.

2° Type ne donnant pas d'indol. Ce type est le plus fréquent. On le

rencontre souvent dans les eaux. Achard et Renault l'ont signalé dans les infections urinaires.

3° Type immobile et ne donnant pas d'indol ; ce type est très voisin du Pneumobacille et surtout du *B. lactis aerogenes*.

4° Type ne réduisant pas le rouge neutre.

5° Le Bacille de la diarrhée verte des enfants, d'après Lesage, est un Colibacille chromogène, à pigment vert.

On avait décrit en outre un type de Paracolibacille ne fermentant pas la lactose, mais il est probable que ce microbe était, en réalité, un Bacille paratyphique.

ACTION PATHOGÈNE.

Le Colibacille peut se montrer pathogène pour l'homme et pour l'animal.

Dans les conditions naturelles. — Le Colibacille peut déterminer les affections les plus variées.

Chez l'homme. — A. Il provoque parfois des *septicémies*, de gravité variable. Elles prennent généralement leur point de départ dans un foyer infectieux localisé, dont l'agent pathogène est le Colibacille : à la suite de métrites (septicémie puerpérale), d'affections des voies urinaires, etc. Parfois la porte d'entrée est inconnue.

B. Des affections *localisées* sur presque tous les tissus ou appareils :

a. *Appareil digestif :* choléra nostras, diarrhée des nourrissons, appendicite ; parfois des amygdalites, des abcès du foie.

b. *Voies biliaires* : angiocholite suppurée (fréquemment), ictère bénin ou infectieux (fréquemment), peut-être lithiase biliaire.

c. *Voies urinaires :* cystite, pyélonéphrite, infection urinaire : le Colibacille paraît être l'*agent habituel* de ces diverses manifestations morbides. C'est lui qu'on avait décrit antérieurement sous le nom de *bactérie urinaire* (Clado) et de *bactérie pyogène de la vessie*.

d. *Voies génitales* : métrite, salpingite.

e. *Appareil respiratoire* : pleurésie, bronchopneumonie.

f. *Appareil circulatoire* : endocardite infectieuse (Gilbert et Lion), péricardite, phlébite.

g. *Système nerveux* : méningite.

h. *Appareil locomoteur* : ostéite.

i. *Tissu cellulaire* : phlegmon, phlegmon gazeux. Le *Bacillus, pyogenes fœtidus* de Passet, agent des phlegmons gazeux, est identique au Colibacille.

Chez l'animal. — Le rôle pathogène du Colibacille est, jusqu'ici moins étendu. On le signale particulièrement dans la diarrhée des veaux, l'entérite de la vache (Jensen), dans les infections urinaires du chien et du porc, dans l'ictère épidémique du chien.

Action pathogène expérimentale. — A l'égard des animaux

de laboratoire, le pouvoir pathogène du Colibacille se montre extrêmement variable.

Virulence. — La virulence est souvent nulle ou très réduite. Les Bacilles pathogènes dans les conditions naturelles (chez l'homme ou l'animal) sont d'ordinaire virulents pour les animaux de laboratoire.

Les maladies de l'intestin (Lesage et Macaigne, toutes les maladies fébriles en général (Bard et Aubert) font apparaître ou exaltent la virulence du Colibacille de l'intestin humain.

Mais, d'autre part, un Colibacille de l'intestin d'individus parfaitement sains peut se montrer virulent par inoculation à l'animal.

Pour obtenir un Colibacille virulent (*virus exalté*), il suffit de faire des passages en série par l'animal (péritoine ou plèvre de préférence). On peut encore suturer l'anus du cobaye (occlusion intestinale) : l'animal succombe rapidement ; prélever la sérosité péritonéale, riche en Bacilles virulents.

La description ci-dessous concerne des Bacilles fortement virulents. Des Bacilles virulents à un moindre degré produiraient les mêmes effets, mais à doses plus fortes.

L'animal de choix est le cobaye.

Cobaye. — Les procédés les plus sévères sont l'inoculation intrapéritonéale et l'inoculation intrapleurale.

Inoculation intrapéritonéale. — Quelques gouttes de culture virulente provoquent une véritable péritonite avec hypothermie ; mort en moins de vingt-quatre heures. A l'autopsie, on trouve de la péritonite avec exsudats fibrino-purulents, de la congestion viscérale généralisée ; dans l'intestin, un liquide diarrhéique ; il existe de la tuméfaction des organes lymphoïdes (rate, plaques de Peyer) ; parfois des ecchymoses (intestin) ou des hémorragies (utérus). Bacille dans le sang et les organes (Rodet et G. Roux).

Inoculation intrapleurale. — Mêmes symptômes. A l'autopsie, pleurésie avec exsudats fibrino-purulents, parfois hémorragiques ; épanchement péricardique ; congestion viscérale (poumons, intestin) ; rate hypertrophiée. Bacilles dans le sang et les organes.

Inoculation sous-cutanée. — Un centimètre cube de culture virulente provoque un abcès au point d'inoculation ; l'animal meurt en quelques jours, avec les lésions décrites ci-dessus dans les organes lymphoïdes et dans l'intestin.

Si la virulence est moindre, il se produit seulement un abcès, qui guérit par la suite.

Souris. — Un peu moins sensible que le cobaye. Mêmes procédés, mêmes lésions.

Lapin. — Moins sensible que le cobaye. A doses plus fortes, on reproduit les mêmes symptômes et les mêmes lésions que chez ce dernier. La résistance relative du lapin explique certaines lésions

lentes, inconstantes: quelques jours après l'inoculation, suppurations multiples (ganglions mésentériques, foie, rate) ; quelques semaines après inoculation l'intraveineuse, une poliomyélite antérieure (Gilbert et Lion).

TOXINES.

I. Les bouillons de culture, stérilisés par filtration, demeurent toxiques pour les animaux, mais à doses fortes seulement.

II. Le précipité obtenu par le sulfate d'ammoniaque est un peu toxique (Malvoz). D'après Vaughan, la véritable toxine serait adhérente au corps bacillaire et ne diffuserait pas (endotoxine).

III. Les effets des filtrats de cultures paraissent assez nets.

Chez le lapin (Gilbert), l'inoculation intraveineuse d'une dose mortelle est suivie des trois phases suivantes : d'abord parésie, anesthésie, mydriase, somnolence et même coma ; puis hyperexcitabilité musculaire (secousses convulsives); enfin, myosis, violente contraction tétanique généralisée persistant jusqu'à la mort. A doses moindres, on peut provoquer une intoxication chronique avec diarrhée, le plus souvent mortelle ; à l'autopsie, on trouve parfois des altérations et des escarres de l'intestin.

Chez le cobaye: par injection intrapéritonéale, hypothermie, collapsus, mort (Boix); invasion du Colibacille intestinal dans le sang (Achard et Renault).

Chez la grenouille (Roger), trois phases successives : parésie d'abord, puis hyperexcitabilité, enfin paralysie.

Colilysine. — Les cultures faites en bouillon acide, filtrées, présentent une hémolysine active sur les globules rouges de chien, de cheval, de bœuf (Kayser). Elle apparaît au deuxième jour pour augmenter jusqu'au quatrième et demeure stationnaire jusqu'au quinzième. Très résistante, elle n'est pas détruite par un chauffage à 120° prolongé pendant trente minutes. Il existe une *anticolilysine* dans le sérum normal de l'homme et du cheval, de même que dans le sérum de lapins inoculés.

SIÈGE.

Le Colibacille peut être rencontré : 1° chez l'homme ; 2° chez l'animal ; 3° dans les tissus et organes cadavériques ; 4° dans les milieux extérieurs.

A. **Chez l'homme.** — 1° *A l'état normal.* — Le Colibacille fait partie de la flore intestinale normale, dont il constitue l'espèce prédominante. Il est présent dès les premières heures après la nais-

sance, même avant toute alimentation (Escherich). Il habite en outre les partie inférieures des voies excrétrices des glandes annexes : voies biliaires (Gilbert et Lippmann), voies pancréatiques.

Il est souvent présent (43 fois sur 100, Grimbert et Choquet) dans la bouche, particulièrement sur les amygdales.

Il fait généralement partie de la flore normale de l'urètre.

2° *A l'état pathologique*, il se rencontre parfois dans le sang (septicémies), plus souvent dans les diverses manifestations morbides qu'il provoque.

B. **Chez l'animal**. — Mêmes sièges que chez l'homme.

C. **Dans les tissus et organes cadavériques.** — Le Colibacille émigre de l'intestin dans les organes et tissus peu de temps après la mort (Würtz et Hermann), et même pendant la période organique (Achard et Phulpin, Beco).

Cette pénétration est favorisée par des circonstances multiples : élévation de la température extérieure, existence de lésions intestinales. Mais ces conditions ont pour seul résultat d'accélérer la migration du Colibacille ; elles ne sont pas indispensables.

Comme conséquence, *la constatation du Colibacille sur le cadavre n'a pas de signification pathogénique.*

D. **Dans les milieux extérieurs.** — Provenant des excreta, le Colibacille peut être disséminé partout. Il est souvent rencontré dans les eaux, à peu près constamment dans le lait, souvent dans les aliments les plus divers (légumes, viandes, etc.). Sa présence dans le sol peut être considérée comme constante.

VACCINATION.

Expérimentalement, il est facile d'immuniser les animaux contre un Colibacille (Cesaris Demel et Orlandi, Albarran et Mosny, Rodet). Mais le fait a peu d'intérêt pratique, vu le particularisme étroit des différents échantillons de l'espèce.

C. Demel et Orlandi (1891) ont avancé que les animaux vaccinés contre le Bacille typhique étaient également vaccinés contre le Colibacille, et inversement. Ce fait n'a pas été confirmé.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le diagnostic bactériologique ne peut être basé que sur la constatation du microbe. Il est souvent nécessaire, en outre, de contrôler son action pathogène par la recherche des propriétés sériques.

Recherche du microbe. — 1. Pour chercher le Colibacille dans

le sang, on s'adressera aux procédés habituels d'hémoculture (Voy. chap. *Analyses bactériologiques*).

II. L'isolement du Colibacille dans les produits pathologiques est extrêmement facile ; pour le pus (cholécystites, par exemple), on peut se contenter de simples isolements sur gélose. La recherche dans les produits habituellement très impurs (cystites), et surtout dans les selles, sera facilitée par l'emploi de procédés spéciaux (Voy. chap. *Bacille Typhique*).

III. L'identification du Colibacille ne présente aucune difficulté.

Interprétation des résultats. — I. Le Colibacille étant un agent habituel d'infections cadavériques, la constatation de sa présence sur le cadavre n'a aucune signification.

II. La présence du Colibacille dans le sang, pendant la vie, est toujours un fait pathologique. Il sera toutefois prudent de s'assurer qu'il n'existe pas en même temps un autre microbe (Bacille typhique en particulier).

III. De même, la présence du Colibacille, pendant la vie, dans les organes qui lui sont normalement fermés (poumons, foie, vésicule biliaire, etc.) suffit à caractériser une infection colibacillaire.

IV. En ce qui concerne les organes ou tissus qui peuvent héberger normalement le Colibacille (vessie, intestin, bouche), le rôle pathogène du Colibacille peut être affirmé s'il existe une lésion grossière (cystite, angine) dont la culture donne exclusivement le Colibacille. En tout autre cas, avant de conclure à une infection colibacillaire, il faut constater la présence dans le sérum d'anticorps spécifiques pour le Colibacille incriminé.

CHAPITRE XXXIV

BACILLUS FÆCALIS ALCALIGENES

Le *Bacillus fæcalis alcaligenes*, décrit par Petruschky, est peut-être pathogène pour l'homme (entérites, infection typhoïde), mais le fait n'est pas nettement établi. C'est avant tout un microbe rencontré fréquemment dans l'intestin humain, à l'état normal ou à l'état pathologique ; *il ressemble par nombre de caractères au Bacille typhique et a certainement été bien souvent confondu avec ce dernier*. C'est surtout pour éviter cette confusion qu'il faut le connaître.

Étude du « Bacillus fæcalis alcaligenes », comparé au Bacille typhique. — Le lecteur voudra bien se reporter au chapitre *Bacille typhique* au tableau de la page 478 et à la figure 214.

Caractères communs. — Le *B. fæcalis alcaligenes* rappelle le Bacille typhique par les caractères suivants :

C'est un Bacille à bouts arrondis, mobile (souvent très mobile), ne prenant pas le Gram.

Il se développe bien sur tous les milieux usuels ; l'optimum de température est vers 37°. Les cultures sur gélose, sur gélatine, sur rouge neutre, de même que les colonies sur les milieux de recherche (milieu d'Endo, de Drigalski, Conradi et similaires) présentent l'aspect des cultures ou colonies du Bacille typhique. Il ne fermente pas la lactose, ne coagule pas le lait et ne donne pas d'indol.

Caractères différentiels. — Mais d'autres caractères séparent nettement les deux microbes :

Les cils du *B. fæcalis alcaligenes* sont polaires (uni ou bipolaires, en moyenne trois à cinq) et non péritriches.

Ses cultures sont exclusivement aérobies et non facultativement anaérobies. Les caractères de culture sont un peu différentiels en bouillon, nettement différentiels en lait, lait tournesolé, et surtout pomme de terre et petit-lait tournesolé.

En bouillon, le *B. fæcalis alcaligenes* donne un trouble uniforme avec voile assez épais à la surface.

Le lait n'est pas coagulé, mais il se clarifie un peu (opalescence) après une huitaine de jours.

Sur pomme de terre, il se forme un enduit épais, brun.

Le lait tournesolé devient alcalin (teinte bleue), en un temps variable, souvent deux à quatre jours.

Le petit-lait tournesolé présente en vingt-quatre heures un trouble homo-

gène, avec voile à la surface, et prend en même temps une réaction alcaline (teinte bleue) très accusée.

L'action sur les sucres est un peu inconstante. Le *B. fæcalis alcaligenes* ne fermente jamais la mannite, presque jamais la glucose, la galactose, la lévulose ; en milieux mannités, glucosés, etc., additionnés de tournesol, le *fæcalis* provoque presque toujours l'alcalinisation (teinte bleue).

Les sérums spécifiques pour le Bacille typhique n'agglutinent pas ou presque pas le *B. fæcalis alcaligenes*.

L'action d'un sérum spécifique pour le *B. fæcalis alcaligenes* est fort variable (Klimenko); certains échantillons de l'espèce sont agglutinés à hautes dilutions, d'autres ne sont pas agglutinés. En tous cas, un tel sérum est sans action sur le Bacille typhique.

Cet ensemble de caractères éloigne nettement le *B. fæcalis alcaligenes* du Bacille typhique. La confusion est impossible; il suffit d'y penser.

Cause d'erreur. — Il peut arriver qu'une colonie, en apparence bien isolée, contienne en réalité à la fois le Bacille typhique et le *B. fæcalis alcaligenes* : les cultures issues de cette colonie seront également mixtes. Berghaus n'a pas eu de peine à montrer que Atschüler, puis Dœbert étaient partis de telles cultures mixtes quand ils ont prétendu « transformer » le Bacille de Petruschky en Bacille typhique; en réalité, les deux espèces sont foncièrement distinctes.

Remarque. — I. Klimenko a bien montré qu'on rapporte souvent au *B. fæcalis alcaligenes* des germes producteurs de pigment fluorescent vert ou verdâtre; ces bactéries appartiennent au *B. fluorescens non liquefaciens*. Elles sont alcaligènes et se rapprochent par leurs caractères généraux du microbe que nous étudions, mais elles se séparent de lui par leur pouvoir chromogène et par leur propriété de fermenter la glucose et la lévulose.

II L'espèce *B. fæcalis alcaligenes* est bien définie par les attributs énumérés ci-dessus. On a décrit en outre d'autres Bacilles alcaligènes, dont les relations avec les espèces classées ne sont pas toujours très bien établies.

CHAPITRE XXXV

LES BACILLES DYSENTÉRIQUES

On admet actuellement que la dysenterie n'est pas une. Cette expression ne s'applique qu'à un syndrome, qui traduit un état inflammatoire du côlon, ressortissant à des causes étiologiques variables. Il n'existe donc pas *une* dysenterie, mais *des* dysenteries, produites par différentes causes parasitaires. On connaît en effet une dysenterie produite par les amibes (dysenterie amibienne), une dysenterie balantidienne, etc., enfin, la plus connue dans nos régions, la *dysenterie bacillaire.*

Cette dysenterie bacillaire sévit de préférence dans les pays tempérés, mais aussi parfois sous les tropiques; elle est épidémique et essentiellement saisonnière. On a pensé pendant un certain nombre d'années qu'elle était produite par un seul germe spécifique: le *Bacille dysentérique,* découvert en 1888 par Chantemesse et Widal, étudié ensuite et bien identifié par Shiga et de nombreux auteurs.

Mais des recherches ultérieures ont démontré que la spécificité microbienne de cette infection *n'est pas une*: elle peut être produite par des germes appartenant sans doute à une même famille, mais différant les uns des autres par certains caractères biologiques (fermentations sucrées, agglutination, etc.) qui les séparent, malgré leur ressemblance morphologique et culturale sur les milieux ordinaires. L'un d'eux seul, d'autre part, est doué de toxicité. On a été ainsi amené à considérer la *pluralité des dysenteries bacillaires*, comme on avait envisagé à l'origine la pluralité des dysenteries, en général; et actuellement on estime que la dysenterie bacillaire peut être produite: 1° par le Bacille de Shiga, seul vrai dysentérique, d'après quelques auteurs, car seul il est toxique, et conférant à cette infection intestinale plus de gravité que ses congénères, et un caractère essentiellement épidémique; 2° par des bacilles dénommés, faussement d'ailleurs, pseudo-dysentériques, représentés par les bacilles de Flexner, de Hiss, de Strong, ne provoquant que des dysenteries généralement bénignes, et à tendance plus sporadique

qu'épidémique. Enfin à côté de ces deux groupes de germes, il y aurait place, d'après certains auteurs, pour des Bacilles atypiques qui seraient capables d'engendrer les dysenteries bacillaires de même caractère, mais pour la spécificité desquels des réserves sérieuses doivent être formulées.

La description qui suit envisagera ces différentes bactéries.

BACILLE DYSENTÉRIQUE DU TYPE SHIGA.

MORPHOLOGIE. — ASPECT MICROSCOPIQUE.

L'aspect est le même dans l'organisme et les cultures. C'est un bâtonnet court de 1 à 3 μ, aussi long que le Bacille typhique, mais

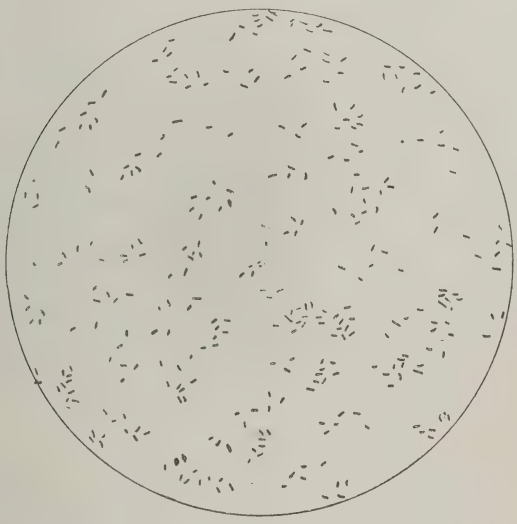


Fig. 210. — Culture du Bacille de Shiga sur gélose âgée de vingt-quatre heures.

plus trapu et plus épais (fig. 210); il est arrondi à ses extrémités. Dans les cultures liquides, au bout de quelques jours, se montrent des formes longues d'involution.

Examiné à l'état frais, il est dénué de mouvements propres, mais présente des *mouvements d'oscillation sur lui-même* (comme l'aiguille d'une boussole); il tournoie sur lui-même ou fait comme une pirouette. Mais, à l'inverse du Bacille typhique, il n'effectue aucun mouvement de projection, ni de reptation.

Il ne possède pas de *cils* et ne forme pas de *spores*.

Coloration. — Il se colore aisément par toutes les couleurs d'aniline et *ne prend pas le Gram*. Dans les préparations colorées par la fuchsine de Ziehl diluée ou le bleu de méthylène, il présente souvent des granulations polaires, retenant davantage la coloration ; le corps du microbe présente une teinte plus claire.

CULTURES.

Il cultive abondamment dans les milieux aérobies et anaérobies. Sa température optima est de 37°. A la température du laboratoire,

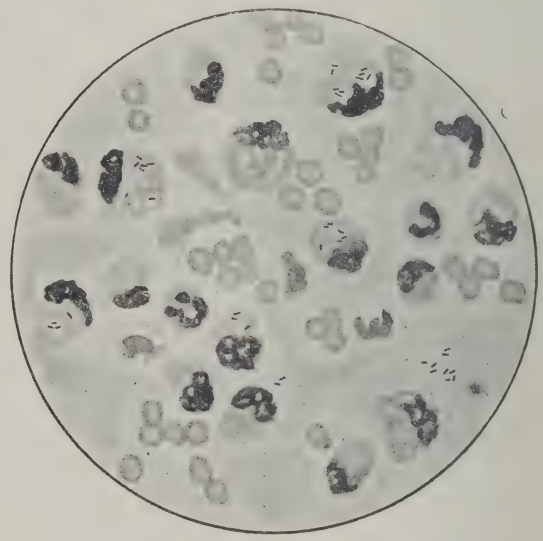


Fig. 211. — Bacille dysentérique dans un frottis de selles.

il pousse, mais moins bien ; au-dessous de + 6°, il ne se développe plus. La réaction des milieux doit être alcaline ; en milieu légèrement acide, sa culture est grêle ou nulle.

Bouillon ordinaire. — Le développement apparaît vers la sixième ou huitième heure; au bout de vingt-quatre heures, le trouble est uniforme ; une légère agitation produit des ondes moirées, analogues à celles du Bacille typhique. Les jours suivants, un dépôt glutineux se forme.

Il ne se forme jamais de voile à la surface, mais, au bout de quelques

jours, une légère collerette se montre sur les bords du tube, à la partie la plus superficielle du liquide.

Gélatine. — La gélatine n'est pas liquéfiée. En *surface inclinée*, il se forme une membrane mince, pelliculaire, opaline, à bords irréguliers, presque identique à celle du Bacille typhique.

Les *colonies isolées* sont minces, translucides, à bords découpés, traversées par des sillons semblables aux nervures d'une feuille de vigne.

En piqure. — Vers le deuxième jour, un pointillé blanchâtre, confluent, apparaît le long de la piqûre : à la surface, c'est un disque mince, transparent, à bords irisés, qui s'opacifie dans la suite.

Gélose. — La strie d'ensemencement est mince, blanc opalin, humide, glutineuse, semi-transparente, à peine saillante; elle est un peu plus épaisse que celle du Bacille typhique.

Les colonies isolées présentent les mêmes caractères.

Sur gélose d'Endo, les colonies restent rosées, prenant seulement la teinte du milieu, alors que le Colibacille donne des colonies rouge vif.

Sérum coagulé. — Culture blanc jaunâtre différant peu des cultures sur gélose.

Pomme de terre. — Au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures, prend naissance une glaçure humide, très mince, peu visible. Suivant la qualité de la pomme de terre, elle devient, dans la suite, grisâtre ou jaunâtre. Les formes d'involution sont fréquentes.

Lait. — Pousse abondamment sans le coaguler.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — La vitalité du Bacille de Shiga est faible. Dans les cultures, il ne vit pas plus de trois à quatre semaines.

Il est très sensible aux influences extérieures.

Il est tué en quelques minutes par la température de l'ébullition; un chauffage à 58° pendant une heure le fait succomber. Par contre, G. Schmidt a constaté sa résistance pendant deux mois à l'action d'un froid modéré.

La dessiccation, la lumière du soleil ont sur lui une influence bactéricide énergique; sous l'action du soleil, il ne résiste pas plus de trente minutes (Shiga). L'humidité, au contraire, l'obscurité favoriseraient sa résistance.

Dans les selles rejetées dans le milieu extérieur, où il souffre de

la concurrence vitale des germes intestinaux, il disparaît au bout de deux à trois jours.

Dans l'eau, sa résistance varie suivant la qualité de cet élément :

Eau de source stérilisée à 15° : survie de six à sept jours ;

Eaux impures stérilisées à 15° : survie de dix à douze jours ;

Plus l'eau est impure, plus courte est la vitalité.

Diverses conditions influent défavorablement sur cette dernière, notamment la lumière et la température de l'eau. Il résiste cinquante-quatre à soixante-huit jours par une température de 6°, et beaucoup moins par une température de 38° que de 20° (H. Vincent).

Réactions biochimiques. — Absence de production d'indol. — La recherche de l'indol dans les cultures en bouillon ou en eau peptonée reste toujours négative avec le Bacille de Shiga.

Action sur les sucres. — Le Bacille dysentérique du type Shiga ne fait fermenter aucun sucre (lactose, mannite, maltose, saccharose, etc.). Ce caractère est important à retenir pour le différencier des types Flexner et Hiss.

Le *lait* n'est pas coagulé. En *lait tournesolé*, la teinte bleue n'est pas modifiée ; ou bien il se produit un faible virage au violet rougeâtre ; la teinte bleue reparaît au bout de quarante-huit heures.

En *petit-lait tournesolé* (*milieu de Petruschky*), il se produit une culture légère ; après vingt-quatre heures d'étuve, le milieu vire légèrement au rouge ; la teinte améthyste reparaît quarante-huit à soixante-douze heures après.

En *bouillon lactosé carbonaté*, aucun dégagement de gaz.

Les *milieux au rouge neutre* ne sont pas influencés ; la teinte est conservée, sans *aucune fluorescence*.

En *gélose lactosée tournesolée*, le Bacille de Shiga ne fait pas virer la teinte bleue du tournesol : pas de bulles de gaz. Il en est de même de tous les milieux sucrés à composition semblable (gélose *mannitée*, *maltosée*, *saccharosée*, additionnée de tournesol).

Ce germe ne produit donc *aucune fermentation sucrée* (fig. 214).

Ces caractères se retrouvent avec les *milieux de Barsiekow*, que l'on prépare avec les sucres précédents.

On observe les mêmes résultats avec les milieux à l'*ovalbuminate de soude* (Hollande et Fumey) additionnés de papiers réactifs tournesolés et des sucres à étudier ; la gélification est plus rapide qu'avec le caséinate de soude (nutrose) contenu dans les milieux de Barsiekow.

Action sur les milieux minéraux (Dopter et Sicre). — Sur gélose au *tartrate de fer* à 3 p. 100, pas de changement de coloration

(le Bacille typhique donne une teinte noire en deux jours, le Colibacille plus tardivement).

Sur gélose au *nitroprussiate de soude*, la teinte devient bleue ou verte en quarante-huit heures (réaction identique à celle du Colibacille ; le typhique donne une teinte bleue légère en plusieurs jours).

Sur gélose à l'*acétate basique de plomb*, la coloration ne change pas (comme avec le Colibacille ; teinte noire en quarante-huit heures avec le Bacille typhique).

Cultures en bouillon phéniqué et arsénié. — En bouillon phéniqué à 0,75 p. 100 à 41°, en bouillon arsénié à 1 p. 100, la culture est positive.

Milieux vaccinés. — Le Bacille de Shiga, ensemencé sur une culture de Shiga raclée, ne pousse pas. Le Bacille typhique y pousse maigrement, le Colibacille abondamment.

Sur cultures raclées de typhique et de Colibacille, le Shiga ne pousse pas.

Pouvoir microbicide de la bile. — H. Vincent a démontré que le Bacille de Shiga ne pousse pas dans la bile stérilisée de l'homme, du bœuf et du cobaye ; bien plus il est tué par ce produit, car quatre, six ou sept jours après l'ensemencement ce germe disparaît.

Dans l'infection dysentérique humaine, de même dans l'infection dysentérique expérimentale par voie veineuse, ce germe n'existe pas dans la bile, qui semble donc posséder vis-à-vis de lui un pouvoir microbicide.

Action antagoniste du microbe bactériophage de d'Hérelle. — Quand on filtre sur bougie Chamberland 12, II à IlI gouttes de selles diarrhéiques de nature dysentérique, additionnées de 10 cent. cubes de bouillon, on obtient un filtrat qui, ajouté à une émulsion de Bacille de Shiga en bouillon, tue ces germes en quelques heures, puis le bouillon s'éclaircit peu à peu et l'on observe leur lyse totale. Cette dernière s'opère sous l'influence d'un microbe bactériophage que d'Hérelle a mis en évidence.

Réactions vis-à-vis des antisérums. — Le sérum des animaux préparés par injections de Bacille de Shiga et le sérum des malades contiennent des anticorps vis-à-vis de ce dernier, parfois aussi, mais moins abondants, vis-à-vis des Bacilles voisins.

Agglutination. — **Sérum des animaux immunisés** — Le sérum des animaux (lapin, chèvre, âne, cheval, etc.) qui ont reçu, à doses croissantes, des injections sous-cutanées, intraveineuses, intrapéritonéales de Bacille de Shiga acquiert des propriétés agglutinatives élevées vis-à-vis de ce germe.

Ce pouvoir agglutinant est spécifique, car:

1° Le sérum normal n'est jamais agglutinant pour le Bacille de Shiga.

2° Un sérum anti-Shiga ne contient d'agglutinines *spécifiques* que pour le Bacille de Shiga; il en est totalement dépourvu vis-à-vis de germes cependant très voisins: le Bacille typhique, les paratyphiques, le Colibacille.

Le même sérum cependant est généralement agglutinant pour les Bacilles de Flexner et Hiss. S'il provient du lapin, il agglutine ces derniers à un taux moins élevé que le Bacille de Shiga; s'il provient du cheval, il peut les agglutiner à un taux supérieur. Mais l'épreuve de saturation des agglutinines effectuée suivant la méthode de Castellani montre qu'il s'agit alors de coagglutinines, ou agglutinines de groupe, *non spécifiques*.

3° Inversement, un sérum anti-Flexner ou anti-Hiss reste sans action sur le bacille de Shiga; les coagglutinines sont exceptionnelles pour ce dernier.

Sérum des sujets atteints de dysenterie bacillaire. — Les recherches concernant les sérums humains montrent que:

1° *Le sérum d'un sujet infecté par le type Shiga agglutine spécifiquement le Shiga infectant et les germes qui rentrent dans son cadre*; il peut agglutiner les bacilles du groupe Flexner-Hiss, mais l'épreuve de Castellani montre qu'en ce cas, il s'agit de coagglutinines non spécifiques.

2° *Par contre, le sérum d'un malade infecté par un bacille autre que le Shiga agglutine les bacilles correspondants: mais ses propriétés agglutinatives sont nulles pour les germes du type Shiga.*

3° Le sérum de sujets sains ou atteints d'infections étrangères à la dysenterie bacillaire n'agglutine spécifiquement aucun des bacilles dysentériques (mention spéciale doit être faite des malades atteints de dysenterie amibienne et de diarrhée de Cochinchine, dont les sérums sont dénués d'agglutinines quand ces affections sont seules en cause). Dans les cas d'infection mixte par l'Amibe et le Bacille dysentérique, l'agglutination peut se produire vis-à-vis de ce dernier.

4° L'agglutination spécifique ne se montre que dans les formes moyennes ou graves; elle apparaît habituellement vers le huitième ou dixième jour de la maladie, persiste pendant toute sa durée, s'observe pendant la convalescence et survit parfois deux à trois mois à la guérison.

Dans les formes légères, son absence est la règle, car elles guérissent avant le délai minimum d'apparition du pouvoir agglutinant.

Si elles se prolongent, celui-ci peut se montrer, même dans le cas de diarrhée simple survenant en pleine épidémie, à côté d'atteintes bien caractérisées (Dopter).

Précipitines. — Un Shiga-sérum mélangé à une culture filtrée de Bacille de Shiga (I goutte de sérum pour X gouttes de filtrat) donne lieu immédiatement à un précipité qui s'amasse au fond du tube. La même culture, mélangée à un Flexner-sérum, donne également un précipité, mais moins abondant.

Cette réaction des précipitines est nulle avec le sérum normal ou d'autres antisérums.

Sensibilisatrice. — **Sérums expérimentaux.** — Le sérum des animaux vaccinés contre le Bacille de Shiga contient une sensibilisatrice spécifique vis-à-vis de ce germe. Contrairement à ce qui se passe pour l'agglutination, l'action spécifique des ambocepteurs s'exerce aussi vis-à-vis des autres types connus de Bacille dysentérique. L'épreuve s'effectue classiquement par la *fixation du complément.*

Sérums humains. — La même expérience effectuée avec le sérum des malades atteints de dysenterie bacillaire donne des résultats identiques. Autrement dit, le sérum d'un sujet infecté par le Shiga possède une sensibilisatrice non seulement pour le Shiga, mais pour le Flexner, le Bacille de Hiss (Dopter).

Cette sensibilisatrice est constante dans les formes graves et moyennes; elle est parfois perceptible dans les formes légères.

Elle apparaît vers le cinquième, sixième ou septième jour de la maladie, et persiste habituellement pendant la convalescence. Sa production est indépendante de celle des agglutinines.

Le sérum des sujets normaux, des sujets atteints de dysenterie amibienne en est complètement dépourvu.

ACTION PATHOGÈNE. — DYSENTERIE EXPÉRIMENTALE.

La réalisation de la dysenterie expérimentale chez l'homme et l'animal constitue la preuve la plus évidente du rôle pathogène spécifique du Bacille dysentérique de Shiga.

Expérimentation sur l'homme. — En 1901, Strong et Musgrave, aux Philippines, font ingérer à un condamné à mort une culture de Bacilles dysentériques; six heures après, il fut atteint des symptômes classiques de la dysenterie; il guérit dans la suite.

Plus tard, Kruse, Lüdke, ayant avalé par mégarde des cultures du Bacille de Shiga, contractèrent la dysenterie.

Expérimentation sur l'animal. — En général, l'animal est

sensible au Bacille de Shiga. Le chien, le lapin, le rat, la souris sont les plus réceptifs; le cobaye est plus réfractaire.

Inoculation intrapéritonéale. — Elle est suivie d'une péritonite suppurée, caractérisée par la production d'un pus grisâtre, filant, visqueux, contenant en foule des Bacilles spécifiques, inclus dans les globules pyoïdes, mais aussi extracellulaires. Le Bacille se généralise et se retrouve dans tous les viscères. La mort survient en douze à quarante-huit heures, suivant la dose injectée.

Inoculation intraveineuse. — Elle détermine chez le lapin des phénomènes paralytiques, de l'hypothermie, de la diarrhée. A l'autopsie, on constate de l'œdème de la muqueuse du gros intestin, parfois des suffusions hémorragiques. Mais la mort survient trop rapidement pour qu'on puisse réaliser au complet la dysenterie expérimentale.

Les ensemencements du sang, des selles, des reins, de l'urine, de la rate restent stériles. Dans les expériences de M. Nicolle, Debains et Loiseau, la présence du germe pathogène serait constante dans le foie.

Inoculation sous-cutanée. — Lapin. — L'inoculation sous-cutanée de 3 à 4 centimètres cubes d'une culture en bouillon de Bacille de Shiga, âgée de vingt-quatre heures, détermine chez un lapin de 2 kilos les phénomènes suivants :

Au point d'inoculation se développe un œdème inflammatoire énorme, où le Bacille injecté pullule; la température s'élève à 40°. Le lendemain, l'animal est abattu, son poil se hérisse; il présente une diarrhée muqueuse abondante, parfois sanguinolente.

Vers le troisième jour, on observe une paralysie du train postérieur ou antérieur, précédée ou non de convulsions. Puis l'hypothermie apparaît, et l'animal succombe vers le quatrième ou cinquième jour.

A *l'autopsie*, le gros intestin est extrêmement épaissi et œdématié; la surface de la muqueuse est hyperémiée et parsemée de suffusions hémorragiques. A un degré plus avancé, la congestion œdémateuse est intense et, sur la teinte lie de vin que présente la muqueuse, se détachent, principalement au niveau des replis, des taches grisâtres, s'effritant facilement, et laissant à nu, une fois soulevées, une surface rouge vif, extrêmement vascularisée. Quand ces taches, véritables plaques de nécrose, se détachent d'elles-mêmes, elles sont remplacées par des ulcérations irrégulières, à bords anfractueux, dont le fond est constitué par un tissu friable, sanieux, comme gangréné (Vaillard et Dopter).

L'intestin grêle, habituellement sain, ne contient qu'un liquide diarrhéique. Il est remarquable de voir le contraste frappant entre

cette intégrité relative et les lésions cæcales qui débutent à la face inférieure de la valvule de Bauhin.

L'estomac est parfois parsemé, au niveau de la muqueuse, d'hémorragies punctiformes, lenticulaires, qui font saillie dans la cavité gastrique.

Le foie, la rate, le rein sont indemnes; les capsules surrénales sont hypertrophiées et très congestionnées. Les ganglions mésentériques sont hyperémiés et hypertrophiés.

Chien. — Chez le chien jeune ou débilité par un artifice, l'inoculation sous-cutanée réalise mieux encore l'image de la dysenterie humaine (Vaillard et Dopter).

L'inoculation sous la peau d'un à deux tubes de culture en gélose développe un œdème sous-cutané énorme, dont le liquide, riche en bacilles, prend un caractère hémorragique. Puis l'animal perd l'appétit, devient triste, reste couché dans sa cage et paraît soufffrir; parfois il gémit et semble torturé par des besoins répétés. Les selles sont tantôt dures, ovillées, striées de sang, tantôt molles, visqueuses, semblables aux crachats rouillés de la pneumonie; tantôt plus fluides et s'étalant en nappes de mucus mélangé de sang. On voit alors l'animal rejeter des placards glaireux et sanglants identiques à ceux de la dysenterie grave de l'homme. Il maigrit rapidement, et meurt du quatrième au sixième jour dans l'hypothermie (32° à 33°).

A l'autopsie, les lésions sont calquées sur celles de la dysenterie humaine : le gros intestin est épaissi, œdémateux; la muqueuse est boursouflée, tuméfiée, rappelant l'aspect du velours, rouge sombre, marbrée d'ecchymoses; à ces lésions initiales se surajoutent des foyers de nécrose superficielle : plaques jaunâtres, diphtéroïdes, écailleuses, friables, dont la chute amène des ulcérations superficielles, à bords irréguliers.

L'épiploon, le mésentère sont œdémateux et congestionnés; les ganglions mésentériques sont rouges et hypertrophiés.

L'intestin grêle est presque indemne; il en est de même des autres viscères.

On ne peut qu'être frappé de la similitude de ces lésions macroscopiques avec celles de la dysenterie humaine; la similitude s'accuse encore quand on compare entre elles les *lésions histologiques* qui présentent un parallélisme absolu dans les différents stades qu'elles parcourent. Signalons, en outre, l'affinité élective bien curieuse de ce virus, qui, introduit sous la peau, va se localiser exclusivement sur le gros intestin. A elle seule, cette propriété prouverait déjà la spécificité du microbe en cause.

Inoculation par les voies digestives. — Jusqu'en 1909, on n'avait pu reproduire expérimentalement la dysenterie bacillaire chez l'animal par ingestion. On peut cependant arriver à ce résultat (Kazarinow, Dopter et Repaci) en faisant ingérer à de jeunes lapins de 700 à 800 grammes des doses énormes de Bacilles dysentériques (émulsion de deux boîtes de Roux raclées dans du bouillon).

Le lendemain ou les jours suivants, l'animal présente une diarrhée intense ; il maigrit considérablement. Puis les membres postérieurs se paralysent, et l'animal meurt dans l'hypothermie, cinq à vingt jours après le repas infectant.

A l'autopsie, on retrouve les mêmes lésions que quand l'inoculation a été pratiquée par la voie sous-cutanée. Le Bacille dysentérique se rencontre dans les déjections ; il ne se généralise pas aux viscères.

Besredka a récemment confirmé ces faits ; il a constaté de plus que chez les animaux qui guérissent, le sérum devient légèrement agglutinant; mais si on renouvelle l'administration *per os* de nouvelles doses, le sérum perd ses agglutinines.

TOXINE DYSENTÉRIQUE.

L'observation montre que les cultures tuées par la chaleur ou le chloroforme sont douées du même pouvoir pathogène que les cultures vivantes (Drigalski et Conradi, Vaillard et Dopter). Elles provoquent les mêmes symptômes et les mêmes lésions. Ces résultats ont conduit à penser que la nocivité du Bacille de Shiga devait avoir pour cause une substance toxique retenue à l'intérieur des cellules microbiennes et libérée dans l'organisme, autrement dit une toxine. Cette toxine existe en effet.

Préparation de la toxine. — ***Procédé de l'autolyse aseptique*** (Conradi). — On émulsionne dans 20 centimètres cubes d'eau physiologique une culture sur agar en boîte de Roux. Mise à l'étuve à 37° pendant vingt-quatre à quarante-huit heures. On filtre au filtre Berkefeld : 0cc,1 du filtrat injecté dans les veines d'un lapin de 2 à 3 kilogrammes lui donne de la diarrhée, des paralysies, de l'hypothermie; il succombe en quarante-huit heures.

Neisser et Shiga, puis Dœrr ont proposé un procédé presque identique : Dœrr émulsionne une culture en boîte de Roux dans 50 centimètres cubes d'eau physiologique ; et, sans chauffer, sans mettre à l'étuve, il filtre sur bougie Reichel : 0cc,3 ou 0cc,5 du filtrat tuent le lapin dans les veines en trois jours.

Procédé de Todd et Rosenthal. — Ensemencer du Bacille de

Shiga en bouillon assez fortement alcalin, mettre à l'étuve à 37° pendant trois semaines, puis on filtre sur bougie Chamberland. On obtient ainsi un liquide extrêmement toxique pour l'animal : 0cc,01 injecté dans les veines d'un lapin de 1 600 à 1 700 grammes le tue en quarante-huit heures. Quand la filtration est effectuée avant le délai indiqué, la toxicité est moindre ; mais plus elle se rapproche du vingtièmejour, plus elle est accusée. Après la troisième semaine, la toxicité décroît progressivement.

La toxine obtenue peut être précipitée par l'addition de sulfate d'ammoniaque à saturation : un précipité brunâtre se forme à la surface du liquide ; on le recueille, on le dialyse, on le dessèche, puis il est pulvérisé 0gr,002 de cette poudre dissoute dans l'eau tue en deux à cinq jours un lapin de 1 800 grammes injecté dans les veines.

La précipitation peut être opérée par l'alcool absolu (5 à 6 volumes pour 1 volume de filtrat). Un précipité se forme qui se sédimente. Sa toxicité est égale à celle de la poudre précédente.

Procédé de Besredka. — Des cultures sur agar en boîtes de Roux, âgées de seize à dix-huit heures, sont émulsionnées dans l'eau physiologique, tuées à 60° pendant une heure et desséchées dans le vide ; 0gr,4 de bacilles secs sont mélangés avec 0gr,15 de chlorure de sodium sec, puis triturés dans un mortier d'agate jusqu'à l'obtention d'une poudre impalpable.

Dans le mortier, on verse alors goutte à goutte 1 à 2 centimètres cubes d'eau distillée qui dissout le sel; les microbes s'agglutinent ; ajouter 20 centimètres cubes d'eau pour ramener la concentration à celle de l'eau physiologique ; transvaser dans un tube à essai cette émulsion, dont les germes se déposent au fond du tube. Après agitation, abandonner le mélange à la température ordinaire. Le lendemain, décanter la partie liquide supérieure, opalescente, renfermant la toxine en solution.

Procédé de M. Nicolle, Debains et Jouan (technique Rowland). — Les bacilles vivants, pesés et versés dans un mortier stérile, sont abandonnés au froid pendant une heure. Ajouter en broyant une partie et demie de sulfate de soude fraîchement calciné. Le mélange finit par prendre l'aspect pulvérulent.

Pour obtenir l'extrait, ajouter 20 centimètres cubes d'eau distillée à 1 gramme de poudre ; abandonner vingt-quatre heures au froid, et passer ensuite sur de la terre d'infusoires suivant le procédé ci-dessous :

Dans un tube à essai verser un peu de terre d'infusoires (de quoi remplir le fond arrondi) ; verser 20 centimètres cubes d'eau, boucher et agiter fortement. Préparer un autre tube avec entonnoir et filtre plissé. Porter la suspension de terre sur ce filtre : le liquide passe clair et la poudre tapisse le papier. Rejeter l'eau. Verser par portions l'émulsion bactérienne qui passe parfaitement limpide. Le liquide ainsi clarifié est très toxique pour le lapin.

Propriétés de la toxine dysentérique. — La toxine dysentérique possède plusieurs propriétés qui la distinguent des toxines similaires :

Elle est assez résistante à la chaleur, puisque un chauffage de 75° pendant une heure l'affaiblit sans la détruire; elle n'est détruite que par un chauffage d'au moins 81° pendant une heure.

Dœrr a montré sa résistance à la lumière, aux acides minéraux à 20 ρ. 100, à la bile, aux ferments du tube digestif, comme la trypsine.

Par contre, son activité est anéantie quand on la met en contact avec la pulpe d'intestin grêle du lapin normal pendant deux heures à l'étuve (Dœrr). La pulpe des autres viscères la laisse indemne.

Nature de la toxine. — Deux opinions sont en présence : les uns (Kraus et Dœrr), s'appuyant sur l'obtention de la toxine par le procédé de Todd et Rosenthal, l'envisagent comme une toxine soluble; les autres la considèrent comme une toxine retenue dans les corps microbiens, autrement dit comme une endotoxine.

Cette conception paraît être la plus vraisemblable; la toxine obtenue par le procédé de Todd et Rosenthal possède les mêmes qualités et propriétés que celle qu'on extrait des corps microbiens par les méthodes d'autolyse; son pouvoir pathogène est identique encore; enfin le poison contenu dans les ballons de bouillon de Todd et Rosenthal est assurément celui qui a été, non pas sécrété par les germes, mais dégorgé par les corps microbiens dans le liquide; en effet, dans ces ballons, la culture cesse, et les microbes succombent vers le dixième jour, alors que la toxicité du filtrat présente son maximum au vingtième jour. Il se produit non pas une sécrétion, mais une excrétion de toxine.

Effets pathogènes de la toxine sur l'animal. — La toxine dysentérique, injectée seule dans les veines ou sous la peau du lapin, reproduit trait pour trait les symptômes et les lésions qu'on provoque avec les cultures vivantes; les lésions portent principalement sur le gros intestin et le système nerveux.

Sur le *gros intestin*, on a l'image de la dysenterie humaine.

Au niveau du *système nerveux*, on observe des altérations plus particulièrement au niveau de la moelle. Elles atteignent l'axe gris, sont diffuses ou de préférence localisées; elles consistent alors en de véritables foyers de ramollissement se développant dans les cornes antérieures : lésions nécrotiques détruisant les éléments cellulaires et les fibres myéliniques, En somme, on observe une véritable poliomyélite, dont dépendent les phénomènes paralytiques observés pendant la vie.

Ces faits permettent d'expliquer la pathogénie de la dysenterie bacillaire humaine : le Bacille pullule dans le gros intestin, s'y cantonne, mais élabore une toxine qui diffuse dans l'organisme et y produit les phénomènes d'intoxication qu'on observe régulièrement.

GROUPE DES BACILLES DE FLEXNER-HISS.

Bacille de Flexner.

Morphologie. — Les caractères morphologiques du Bacille dysentérique du type Flexner ne diffèrent en rien de ceux qui ont été assignés au Bacille de Shiga.

Cultures. — Les caractères de culture, à part quelques variantes, sont sensiblement les mêmes.

Notons cependant qu'en *bouillon*, au bout du deuxième jour environ, se forme au niveau de la partie la plus superficielle du liquide une collerette abondante, adhérente aux bords du tube.

Sur gélose, gélatine, sérum coagulé, pomme de terre, les cultures sont un peu plus abondantes que celles du Bacille de Shiga.

b. **Propriétés biochimiques. — Indol.** — Les Bacilles du type Flexner fabriquent de *l'indol* dans les milieux utilisés habituellement pour cette recherche. Il existe toutefois quelques différences dans l'intensité de la réaction, suivant l'échantillon employé.

Action sur les sucres. — Dans le *lait simple*, le *lait tournesolé*, le *bouillon lactosé carbonaté*, l'action est identique à celle du Bacille de Shiga.

En *petit-lait tournesolé*, en vingt-quatre heures, le milieu prend une teinte rose, qui vire à l'améthyste après plusieurs jours.

Dans les *milieux au rouge neutre*, pas de fluorescence; le milieu reste inchangé comme le Bacille de Shiga; le Bacille de Flexner ne fait pas fermenter la lactose. Par contre, il fait fermenter la *mannite*, la *maltose*, la *saccharose*. La gélose tournesolée à laquelle on ajoute ces sucres devient violette au bout de vingt-quatre heures, puis rouge, après quarante-huit heures ; mais cette fermentation s'opère sans production de bulles de gaz, sans l'éclatement du milieu qu'on observe avec le Colibacille.

Les mêmes particularités sont perceptibles avec les *milieux de Barsiekow* (fig. 215).

Action sur les milieux minéraux. — Ils se comportent comme le Bacille de Shiga.

Cultures sur milieux vaccinés. — Ni le Flexner, ni le Shiga ne poussent sur les cultures de Flexner raclées. Le Bacille typhique y pousse maigrement, le Colibacille abondamment.

Le Flexner ne pousse pas sur les cultures raclées de Shiga, de typhique, de Colibacille.

Cultures en bouillon phéniqué et arsénié. — Mêmes caractères que pour le Bacille de Shiga.

Réactions aux antisérums. — Agglutination. — Le sérum d'un animal vacciné contre le Flexner agglutine les divers échantillons de ce germe, ainsi que les Bacilles du type Y de Hiss ; il reste sans action sur le Bacille de Shiga.

De même le sérum des malades infectés par le Flexner ou le Hiss agglutine spécifiquement ces deux germes; il n'agglutine pas le bacille de Shiga.

Contrairement à ce que l'on observe avec ce dernier, les Bacilles de ce groupe peuvent être agglutinés jusqu'à 1/200 par les sérums normaux ; ce taux est souvent même dépassé avec des sérums de sujets atteints d'états pathologiques intestinaux étrangers à la dysenterie bacillaire, de même avec des sérums de sujets ayant subi depuis peu les vaccinations antityphoïdiques ou cholériques (Ravaut, Keck, etc.) ; ces dernières semblent renforcer le pouvoir agglutinant vis-à-vis du groupe Flexner-Hiss, fait qu'on n'observe pas avec le Bacille de Shiga.

D'ailleurs les Bacilles de Flexner et de Hiss, notamment les premiers, sont généralement plus agglutinables que le bacille de Shiga, surtout s'ils proviennent de souches conservées depuis longtemps au laboratoire ; un sérum de cheval normal peut les agglutiner à 1 p. 100 ou 200.

De ces constatations il résulte que les Bacilles de Shiga et du groupe Flexner-Hiss se séparent nettement par l'agglutination, qu'il s'agisse d'antisérum ou de sérums de malades. Par contre, cette réaction ne peut séparer les Bacilles de Flexner et de Hiss qui semblent devoir rester confondus au point de vue de leur spécificité respective.

Précipitines. — Un Flexner-sérum, ajouté à une culture de ces germes, produit un précipité spécifique abondant, moins abondant quand la culture provient d'un type Shiga.

Sensibilisatrice. — Un Flexner-sérum possède pour le Flexner et tous les autres germes, le Shiga entre autres, une sensibilisatrice spécifique (Voy. p. 549).

Action pathogène expérimentale. — D'une façon générale, les Bacilles de Flexner sont infiniment moins pathogènes que le Bacille de Shiga.

L'*inoculation intraveineuse*, même à des doses énormes, ne provoque habituellement d'autres troubles qu'un légère hyperthermie transitoire. Quelques échantillons cependant, mais à dose élevée (1 centigr. de corps microbiens), peuvent tuer l'animal, mais les lésions n'ont rien de commun avec celles de la dysenterie expérimentale (M. Nicolle et Debains).

L'*inoculation intrapéritonéale*, par contre, donne chez le cobaye, le rat, la souris, des phénomènes analogues à ceux que produit le Bacille de Shiga. On provoque dans ces conditions, chez le cobaye, une péritonite mortelle avec pus filant et visqueux. Le Bacille, abondant dans le péritoine, se retrouve dans le sang et les viscères.

L'*inoculation sous-cutanée* est presque inoffensive. Au point d'inoculation, un gros œdème se forme, puis s'abcède au bout de quatre à cinq jours, et l'animal guérit. Mais on n'observe en aucune façon la dysenterie expérimentale que donne le Bacille de Shiga.

Toxines. — Les Bacilles du type Flexner n'élaborent pas de toxine appréciable; les vieilles cultures en bouillon injectées à forte dose amènent à la longue l'amaigrissement et la cachexie, mais ne produisent rien de comparable à la toxine dysentérique véritable. Si toxine il y a, elle n'est nullement neutralisée par l'antitoxine du sérum anti-Shiga).

Bacille Y de Hiss.

Le Bacille Y de Hiss ne présente, aux points de vue morphologique ou cultural, aucune différence avec les germes rentrant dans le type Flexner proprement dit.

Il possède de plus les mêmes propriétés d'agglutination, de précipitation, de fixation du complément vis-à-vis du Flexner-sérum expérimental ou provenant de malades.

Il se sépare cependant du Flexner en ce qu'*il ne fait pas fermenter la maltose* : ce n'est peut-être pas un caractère suffisant pour en faire un type nettement différencié du type Flexner.

Bacille dysentérique du type Strong.

Mêmes analogies morphologiques et culturales usuelles avec les germes précédents. Développe toujours de l'indol en eau peptonée. Il fait virer au rouge les milieux tournesolés contenant mannite et saccharose, mais reste inactif sur maltose.

Enfin il est agglutiné par un sérum homologue.

Tableau résumant les caractères différentiels des Bacilles dysentériques.

	TYPE SHIGA.	TYPE FLEXNER.	TYPE HISS.	TYPE STRONG.
Production d'indol	Pas d'indol.	Indol.	Indol.	Indol.
Lait	Pas de coagulation.	Cf. Shiga.	Cf. Shiga.	Cf. Shiga.
Petit-lait tournesolé	Rougit faiblement. Redevient améthyste après 24 heures.	Rougit plus que Shiga.	Cf. Flexner.	Cf. Flexner.
Milieux lactosés	Pas de fermentation.	Cf. Shiga.	Cf. Shiga.	Cf. Shiga.
Milieux mannités	Pas de fermentation.	Fermente (pas de gaz).	Fermente (pas de gaz).	Fermente (pas de gaz).
Milieux maltosés	Pas de fermentation.	Fermente (pas de gaz).	Pas de Fermentation.	Pas de Fermentation.
Milieux au neutral-roth	Pas de modification.	Cf. Shiga, parfois légère fluorescence.	Cf. Flexner.	Cf. Flexner.
Agglutination avec un Shiga-sérum	+	0	0	0
Avec un Flexner-sérum	0	+	+	0
Avec un Hiss-sérum	0	+	+	0
Avec un Strong-sérum	0	0	0	+
Action pathogène expérimentale	Reproduit la dysenterie expérimentale.	Néant.	Néant.	Néant.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LES BACILLES DYSENTÉRIQUES.

De la description qui précède, il semble bien que la dysenterie bacillaire puisse être produite par deux variétés de germes :

D'une part le *bacille de Shiga*, dont le rôle spécifique n'est pas douteux, puisqu'il reproduit chez les animaux réceptifs la dysenterie expérimentale, dont les lésions sont calquées sur celles de la dysenterie bacillaire humaine. Ce bacille est doué en outre de caractères d'une fixité absolue que l'on retrouve avec tous les échantillons isolés de toutes les épidémies auxquelles il a donné naissance; réserve doit être faite à cet égard de certains germes, qui sont et restent inagglutinables.

D'autre part, les Bacilles que l'on peut classer dans un groupe général, *Flexner-Hiss-Strong*, et qui se différencient surtout du précédent :

a) Par leur peu de toxicité, d'où l'étiquette de « bacilles atoxiques » qui leur a été donnée;

b) Par l'impossibilité dans laquelle ils sont de reproduire chez l'animal la dysenterie expérimentale ;

c) Par les variations souvent observées dans leurs caractères biochimiques et notamment dans leur action fermentative.

Cette dernière n'est constante que pour la *mannite*; sur maltose et saccharose, l'expérience montre que leur action peut n'être pas persistante, Martin et Williams ont montré en effet que certains de ces germes faisant fermenter la maltose, perdent cette propriété au bout de plusieurs mois ; Lentz a fait des observations identiques ; Hiss a constaté que des échantillons du germe qu'il a décrit pouvaient, après une série de repiquages, fermenter la maltose; d'où Kruse, Hutt, etc., ont pu conclure que ces germes ne pouvaient pas être différenciés par l'action sur les sucres ; il est juste d'ajouter que ces variations n'ont été observées que sur des souches conservées longtemps au laboratoire, et que sur des échantillons fraîchement recueillis, elles ne se produisent pas.

Il en est de même de l'indol, dont la formation peut ne plus se produire quand les germes sont habitués à la vie artificielle, et peuvent, par acclimatement à leur nouvelle vie, perdre leur avidité pour l'élément peptoné.

Quoi qu'il en soit, ces deux groupes de bacilles: Shiga d'une part, Flexner, Hiss, Strong d'autre part, doivent actuellement être considérés comme nettement différents l'un de l'autre ; la preuve en est d'ailleurs dans l'efficacité thérapeutique du Shiga-sérum sur le

germe homologue et de son inefficacité vis-à-vis des germes du deuxième groupe.

Ils semblent néanmoins appartenir à une même famille, témoin leur pouvoir commun de fixer le complément en présence des antisérums et des sérums de malades infectés par les uns ou par les autres des germes décrits ci-dessus.

SIÈGE DES BACILLES DYSENTÉRIQUES.

Le bacille dysentérique peut siéger dans l'intestin grêle, mais il se cantonne plus particulièrement au niveau du gros intestin où il pullule et élabore sur place une toxine extrêmement active qui envahit l'organisme et provoque des désordres spéciaux. A part de très rares exceptions, les bacilles dysentériques ne passent pas dans la circulation ; aussi ne les trouve-t-on généralement ni dans l'urine, ni dans les viscères.

Ces germes, se développant dans le gros intestin, se retrouvent dans les déjections caractéristiques des malades ; au début, à la période d'acuité, ils s'y montrent à l'état prédominant et il n'est pas exceptionnel de les rencontrer à l'état de culture pure ; le plus souvent ils sont accompagnés de quelques colibacilles.

Quand les symptômes dysentériques s'atténuent, avec le déclin de l'affection apparaissent à nouveau des germes de la flore intestinale, qui prennent de plus en plus le pas sur les germes pathogènes, au fur et à mesure que la guérison s'approche ; si bien que quand cette dernière est obtenue, il devient difficile de déceler quelques rares échantillons de bacilles spécifiques au milieu des espèces si variées, qu'on a l'habitude d'observer dans les déjections diarrhéiques ou normales (*B. coli*, *Proteus vulgaris*, *fœcalis alcaligenes*, bacilles indéterminés, streptocoques, entérocoques, staphylocoques, etc.).

Il est à retenir d'une façon spéciale qu'avant le déclin de l'infection et parfois même à une époque assez rapprochée du début quand elle est bénigne, au bacille dysentérique s'ajoutent des germes qui se distinguent du colibacille, mais se rapprochent des bacilles dysentériques par l'absence de fermentation lactosée ; autrement dit, il s'agit de germes atypiques qui accompagnent le bacille spécifique et en sont les satellites vraisemblablement inoffensifs.

Enfin, malgré les difficultés auxquelles se heurte l'isolement du bacille dysentérique chez les convalescents, on peut arriver en certains cas à le déceler pendant plusieurs mois (porteurs conva-

lescents) ; certains sujets sains (porteurs sains) n'ayant jamais présenté d'atteintes dysentériques, même légères, peuvent l'héberger dans leur gros intestin et l'émettre au dehors à la faveur des exonérations journalières.

BACILLES INTERMÉDIAIRES, DITS « ATYPIQUES ».

Outre le bacille dysentérique de Shiga et les bacilles du groupe Flexner-Hiss et de Strong, un certain nombre d'auteurs ont décrit une multitude de germes voisins se rapprochant plus ou moins des premiers ou des seconds, mais s'en écartant par certains caractères n'ayant en réalité aucune fixité. Aussi les a-t-on nommés « pseudo-dysentériques » ou « paradysentériques » ou encore « métadysentériques ». Déjà décrits avant la guerre, principalement par Castellani, puis par Ruffer et Willmore à Alexandrie, par Morgan aux Etats-Unis, ils ont été rencontrés en plus grand nombre pendant les hostilités à l'occasion des multiples états intestinaux, dysentériformes ou non, qui s'y sont donné libre cours ; on les a décelés enfin dans le tube digestif de sujets qui n'ont jamais présenté de troubles intestinaux.

Leurs caractères. — La plupart d'entre eux se rapprochent du groupe Flexner-Hiss avec lequel ils ne sont pas sans présenter quelque analogie ; ils en diffèrent soit parce que les réactions fermentatives ne semblent pas correctes, soit surtout parce qu'ils ne subissent pas d'agglutination sous l'influence des sérums expérimentaux ; certains sont agglutinés par le sérum des sujets d'où ils proviennent ; d'autres ne le sont pas dans ces conditions ; résultat qui pouvait déjà faire penser qu'ils devaient être étrangers au processus dysentérique.

D'autres, moins nombreux, se rapprochent du bacille de Shiga, mais s'en séparent par les caractères d'agglutination, ou par la production d'indol.

Enfin d'autres se rapprochent davantage du Colibacille que des dysentériques, en raison notamment de la formation de bulles gazeuses développées lors des fermentations sucrées.

Bref, on a décrit une foule de bacilles intermédiaires, qui, de par leurs caractères, tiennent le milieu, d'une part entre le Shiga et les Flexner-Hiss-Strong, et d'autre part entre ces derniers et les échantillons si variables du Colibacille. C'est ainsi qu'on les a désignés, suivant les caractères qui leur ont été respectivement assignés, sous les noms de para-Shiga 1 et 2, para-Flexner 1, 2, 3, para-Hiss, para-Strong.

D'après la plupart des auteurs qui n'ont pu isoler des selles des bacilles dysentériques, mais ont décelé ces diverses variétés, ces bacilles intermédiaires auraient joué un rôle spécifique dans l'étiologie des dysenteries observées.

Voici, à titre de renseignement, la description rapide de certains de ces germes auxquels on a été tenté d'attribuer cette spécificité :

Bacilles de Morgan. — Ces Bacilles avaient été décrits autrefois dans la diarrhée épidémique des enfants. Certains auteurs, notamment Tribondeau et Ficket, leur ont attribué un rôle pathogène dans l'étiologie de dysenteries contractées en 1916 aux Dardanelles.

Ce sont des germes de forme et de dimensions identiques à celles des bacilles dysentériques. Les uns sont mobiles, les autres immobiles. *Ils sont pourvus de cils* (1 le plus souvent, 2 assez fréquemment, 3 ou 4 plus rarement, 5 exceptionnellement). Ils ne prennent pas le Gram.

En bouillon, ils donnent un trouble rapide avec dépôt, et dégagent une *odeur fécaloïde accentuée*, et produisent une *grande quantité d'indol*.

Pas de liquéfaction de la gélatine.

Sur gélose ordinaire, colonies analogues à celles du Colibacille.

Sur *gélose au sous-acétate de plomb*, généralement pas de coloration.

Action sur les sucres. — Sur lactose, acidification légère et transitoire avec formation de bulles gazeuses ; la fermentation des autres sucres est variable :

Un premier type, assez fréquent, fait fermenter glucose, lévulose et maltose, mais n'attaque ni mannite, ni saccharose ; un deuxième fait fermenter les mêmes sucres, plus la mannite ; un troisième, mêmes fermentations que le deuxième, mais n'attaque pas la maltose.

Les milieux sucrés *au rouge neutre*, quand ils fermentent, virent au rouge orangé ou au jaune canari avec production d'une *fluorescence* intense.

Mais ce qu'il convient de retenir d'une façon spéciale, c'est que les fermentations positives s'accompagnent de la *formation de bulles de gaz*, qui ne se produit jamais avec les dysentériques typiques.

Les recherches d'*agglutination* avec le sérum des malades *restent négatives. Il en est de même de la réaction de fixation du complément.*

Expérimentalement chez le cobaye, l'injection sous-cutanée ne provoque que de l'œdème au point d'inoculation ; l'injection intra-péritonéale donne une péritonite mortelle ; l'injection intraveineuse détermine une paralysie du train postérieur et la mort en une dizaine de jours. Les cultures tuées ne sont suivies d'aucun effet pathogène.

Bacilles de Castellani. — Ces germes attaquent tous les sucres, et notamment la saccharose que tous les types Morgan laissent indemne.

Bacille de Schmitz. — Mêmes caractères morphologiques que les bacilles dysentériques ; même mobilité spéciale.

Exhale dans les cultures sur gélatine une odeur prononcée de sperme.

Ne fait fermenter ni lactose, ni mannite, ni maltose, ni saccharose.

Par ces caractères il se rapproche donc assez étroitement du Shiga, mais *il produit de l'indol* ; d'autre part il *n'est pas pathogène* pour le lapin, même

en injection intraveineuse ; enfin il *n'est agglutiné* ni par les sérums expérimentaux (anti-Shiga, anti-Flexner-Hiss-Strong), ni par le sérum de malades infectés par des dysentériques précédents ; il ne s'agglutine qu'après contact avec le sérum d'animaux vaccinés contre ses propres cultures.

Ces caractères ont été retrouvés par Hirschbruch à Metz et par W. Broughton-Alcock en Angleterre.

Bacille de d'Hérelle. — Germe isolé dans 5 cas de dysenterie bacillaire sur 11 malades formant noyau épidémique, et présentant la morphologie et les caractères généraux de culture des bacilles dysentériques.

Pas d'indol.

Fait fermenter maltose et mannite ; inactif sur saccharose ; sur milieu de Pétruschky, virage au rouge. Pas de virage sur rouge neutre. Pas de coloration noire sur gélose à l'acétate de plomb.

Agglutination négative avec les sérums expérimentaux anti-Shiga et Flexner ; négative également avec le sérum des malades.

Ce germe (1/4 de culture sur gélose) tue le lapin en injection sous-cutanée après quatre ou six jours, en injection intraveineuse, intrapéritonéale ou intramusculaire en moins de douze heures. Provoque de la diarrhée muqueuse et de la paralysie du train postérieur. A l'autopsie : viscères normaux, sauf la rate hypertrophiée, et le gros intestin fortement congestionné et parsemé de suffusions hémorragiques sans ulcérations.

Ces lésions ne semblent pas superposables à celles de la dysenterie expérimentale due au Bacille de Shiga.

Signification de ces bacilles atypiques. — Plusieurs opinions se trouvent en présence pour apprécier le rôle que jouent ces bacilles atypiques dans l'étiologie de la dysenterie bacillaire.

Les uns voient en eux des germes nouveaux, capables de déterminer l'éclosion de l'infection dysentérique, autrement dit des bacilles dysentérigènes.

Les autres ne leur attribuent qu'un rôle saprophytique et secondaire, étranger à la spécificité de la dysenterie.

Les partisans du rôle dysentérigène s'appuient sur cette constatation que, dans une même épidémie, ils ont noté sur les plaques d'isolement l'absence de tout bacille dysentérique, et au contraire la présence constante (ou presque) d'un germe différent, parfois même prédominant sur les milieux d'ensemencement des déjections.

C'est d'ailleurs le seul argument valable qu'ils donnent à l'appui de leur conception.

On peut leur répondre que, dans les faits envisagés par eux, l'agglutination des germes par le sérum des malades qui les ont fournis est presque constamment négative, de même aussi la réaction de fixation du complément chaque fois que celle-ci a été cherchée. On peut donc émettre des doutes sur la spécificité respective et globale de ces microbes.

D'autre part, certains germes assimilables aux bacilles du groupe

Flexner-Hiss ont été décrits comme types nouveaux parce que l'action thérapeutique du sérum était nulle ; or on sait actuellement que seule la Shiga-dysenterie bénéficie de son efficacité ; l'argument n'a donc aucune valeur.

Pour d'autres, par contre, tous ces bacilles intermédiaires seraient des variétés d'une espèce unique représentée par le Shiga-type, douées à des degrés divers du pouvoir dysentérigène (Magmone). Nous nous sommes suffisamment expliqués sur les différences qui séparent le Shiga des autres germes pour n'avoir pas besoin d'y revenir. On ne saurait méconnaître, ici encore, l'importance des réactions sériques à l'influence desquelles échappent la plupart de ces bacilles atypiques. En tout cas, il est impossible de souscrire à l'opinion de ceux qui, comme Ascoli, consentent à faire rentrer dans le type Shiga des microbes qui, en produisant des gaz dans les milieux sucrés, se rapprochent plus ou moins du colibacille ; autant prétendre que la dysenterie est partout et qu'elle n'est nulle part (Burnet et Legroux). C'est pour ce motif d'ailleurs que les bacilles décrits par Morgan ne peuvent être considérés comme des dysentériques, même atypiques.

Il semble résulter de ces considérations que les bacilles dits « atypiques » n'interviennent pas dans l'étiologie spécifique de la dysenterie bacillaire ; faisant partie de la flore intestinale normale, ou tout au moins modifiée par l'état inflammatoire de la muqueuse du gros intestin, ils peuvent dès lors être considérés comme des germes « d'accompagnement », comme des satellites du bacille spécifique, comme des saprophytes. En faveur de cette conception, on peut faire valoir tout d'abord qu'en un certain nombre de cas, ces germes peuvent se trouver côte à côte avec le bacille pathogène. Puis, s'ils sont décelés seuls, indépendamment de ce dernier, c'est peut-être en raison d'une technique défectueuse, et notamment d'un ensemencement qui, trop tardif, après l'émission des matières, l'a laissé passer inaperçu. Ce qui semblerait le faire supposer, ce sont les observations intéressantes de J. Dumas qui, dans les trois ou quatre premiers jours de la dysenterie, n'a jamais constaté que des bacilles dysentériques classiques auxquels viennent parfois s'ajouter vers le quatrième ou cinquième jour, ces germes atypiques ; ceux-ci ne seraient autres que des satellites du germe pathogène, intervenant peut-être à titre d'agents d'association secondaire, mais vraisemblablement étrangers à la production de l'inflammation spécifique de la muqueuse.

Telle est la signification la plus rationnelle que l'on est actuellement en droit d'accorder à ces germes intermédiaires atypiques,

en attendant qu'on ait démontré leur rôle vraiment dysentérigène.

Au demeurant, le dernier mot n'est peut-être pas encore dit sur cette étiologie microbienne si complexe : peut-être pourra-t-on démontrer encore l'existence de types dysentériques nouveaux ; rien d'ailleurs ne semble s'y opposer, mais encore faudra-t-il s'entourer de toutes les garanties et opérer notamment avec une technique irréprochable pour poser de nouvelles affirmations à cet égard.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA DYSENTERIE BACILLAIRE.

Le diagnostic bactériologique de la dysenterie bacillaire s'effectue par la recherche du Bacille dysentérique dans les déjections ou, à son défaut, par le sérodiagnostic.

Examen microscopique des selles. — Prélever un flocon

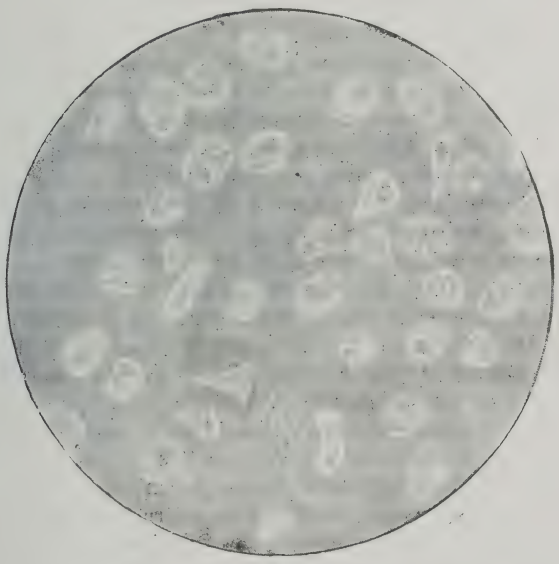


Fig. 212. — Examen à l'état frais d'une selle de dysenterie bacillaire. Cellules épithéliales de l'intestin et leucocytes très abondants.

muqueux de selles dysentériques fraîchement émises ; le déposer sur une lame porte-objet ; recouvrir d'une lamelle.

Observer ainsi à l'état frais, à l'aide d'un objectif à sec (Vérick 7 ou 8) ; on constate : des fibres de mucus, des cellules épithéliales, des hématies et une foule de leucocytes (poly et mononucléaires),

véritable leucocytorrhée (fig. 212), spéciale à cette variété de dysenterie. On note, de plus, l'*absence d'amibes dysentériques* ; enfin des bâtonnets sont perceptibles, intra ou extracellulaires, que ce seul examen, même après coloration, est incapable de différencier du Colibacille ; aussi est-il indispensable de recourir à la technique de l'isolement par les cultures.

Isolement du Bacille dysentérique. — L'ensemencement que réclame cette épreuve doit être pratiqué le plus tôt possible après l'émission, sinon les bacilles dysentériques, bien que présents dans les selles, peuvent être masqués par le développement des germes si vivaces de la flore intestinale normale. Il est presque de règle que les bacilles dysentériques sont indécelables quand l'examen porte sur une selle émise depuis quelques heures, à plus forte raison quand l'ensemencement est pratiqué sur des selles expédiées depuis vingt-quatre heures.

Prélever un flocon muqueux, épais, le laver à trois reprises dans un tube de bouillon ou d'eau physiologique stérile pour le débarrasser des impuretés qu'il véhicule. Ensemencer en stries sur trois boîtes de Petri où l'on a coulé le milieu de culture (gélose lactosée tournesolée, gélose d'Endo ou gélose de Mac Conkey). L'ensemencement peut encore se faire par étalement à l'aide d'un agitateur de verre coudé. Mettre à l'étuve à 37° et examiner les boîtes au bout de seize heures. A cette époque, si des colonies de *B. coli* ont poussé, elles sont déjà rouges et, la teinte rose n'ayant pas encore diffusé dans le milieu environnant, on peut encore reconnaître les colonies ne modifiant pas la teinte générale et appartenant aux bacilles dysentériques.

Après dix-huit et vingt heures, celles-ci peuvent, pour la raison précédente, passer inaperçues.

Néanmoins, si aucune colonie possédant le caractère du Bacille dysentérique n'a encore poussé, remettre à l'étuve et examiner après vingt-quatre, trente-six et même quarante-huit heures s'il le faut, car, en certains cas, la culture peut être tardive.

Gélose lactosée tournesolée. — Les colonies qui ont poussé sont les unes rouges, les autres bleues ; on élimine les premières (Colibacille) ; on porte l'attention sur les secondes, dont la plupart sont constituées par le Bacille dysentérique.

On prélève alors une parcelle des colonies bleues qui paraissent suspectes, pour l'examen microscopique et les cultures destinées à l'identification du germe.

Gélose d'Endo (p. 494). — Les colonies qui ont pris naissance sont les unes rouges, les autres incolores. C'est parmi ces dernières

que se trouvent les bacilles dysentériques. On opère ensuite l'identification comme pour le milieu précédent.

Milieu de Mac Conkey. — Ce milieu se prépare de la façon suivante :

1° Faire dissoudre : *a.* dans 270 centimètres cubes d'eau, 15 grammes d'agar pulvérisé ; *b.* dans 200 centimètres cubes d'eau réchauffée à 60°, 20 grammes de peptone.

2° Mélanger ces deux produits.

3° Dissoudre 5 grammes de taurocholate de soude dans 300 centimètres cubes d'eau, ajouter cette solution au mélange précédent et faire bouillir le tout pendant vingt minutes.

4° Porter à 1 litre ; refroidir à 60° et clarifier avec un blanc d'œuf.

5° Filtrer à chaud sur papier Chardin.

6° Ajouter 10 grammes de lactose et 5 centimètres cubes d'une solution aqueuse à 1 p. 100 de rouge neutre.

7° Stériliser à l'autoclave et répartir en boîtes de Petri (10 centimètres cubes par boîte).

Ici encore, les colonies qui apparaissent sont, les unes rouges, les autres incolores. Les colonies rouges appartiennent au *B. coli* ; les éliminer ; n'examiner que les colonies incolores parmi lesquelles se trouveront les bacilles dysentériques.

Identification. — Epreuve qui a pour but, d'une part de déceler la présence de bacilles dysentériques, d'autre part de déterminer à quel type appartient le germe qui aura été isolé.

Prélever une parcelle d'une colonie bleue sur gélose lactosée tournesolée, incolore sur milieux d'Endo ou de Mac Conkey et la soumettre aux épreuves suivantes :

1° ***Examen à l'état frais*** : émulsionner dans une goutte d'eau physiologique qu'on recouvre d'une lamelle, et déterminer ainsi l'aspect général du germe et sa mobilité spéciale.

2° ***Examen après coloration*** pour se rendre compte de la morphologie des germes prélevés et de leurs propriétés tinctoriales (Gram négatif).

3° ***Recherche des caractères de culture.*** — Ensemencer le restant de la colonie sur bouillon ordinaire, gélose, gélatine, bouillon lactosé carbonaté. On peut aussi ultérieurement rechercher les caractères de culture sur milieux au rouge neutre, sur gélose au sous-acétate de plomb.

4° ***Différenciation.*** — Si les caractères de ces cultures répondent aux caractères généraux des bacilles dysentériques, il convient de poursuivre l'identification, destinée à déterminer quel en est le type : 1° par les fermentations sucrées ; 2° par l'agglutination à l'aide des antisérums.

Fermentations sucrées. — Ensemencer 4 tubes de gélose sucrée tournesolée inclinée contenant respectivement lactose, mannite, maltose, saccharose. Mettre à l'étuve à 37° et observer au bout de vingt-quatre heures.

Suivant le type du bacille isolé, on pourra constater les fermentations suivantes (le signe + signifiant fermentation (virage au rouge), le signe — signifiant non fermentation (persistance de la teinte bleue).

Rappelons que le virage au rouge ne s'accompagne pas de formation de bulles gazeuses.

	Shiga.	Flexner.	Hiss.	Strong.
Lactose	—	—	—	—
Mannite	—	+	+	+
Maltose	—	+	—	—
Saccharose	—	—	—	+

Agglutination. — Soumettre la culture obtenue à la suite de l'isolement pratiqué à l'épreuve de l'agglutination par les sérums expérimentaux anti-Shiga, anti-Flexner et au besoin anti-Strong.

Employer dans ce but l'*agglutination macroscopique* à des dilutions progressives, en tenant compte du taux agglutinatif connu des sérums. Cette agglutination doit être effectuée séparément avec chacun d'eux. Faire les témoins avec du sérum normal.

Laisser reposer à la température du laboratoire et examiner après vingt-quatre heures.

Rappelons que :

1° Le sérum de cheval normal n'agglutine pas le bacille de Shiga; il agglutine souvent les bacilles de Flexner et de Hiss à des taux variant entre 1 p. 100 et 1 p. 200.

2° Le sérum anti-Shiga agglutine le bacille de Shiga, mais aussi, et parfois même à un taux plus élevé, les bacilles de Flexner et de Hiss.

Il semble que, pour éviter les coagglutinations gênantes, qu'on observe avec le sérum anti-Shiga, on puisse se servir avec avantage de sérum préalablement saturé avec le bacille de Flexner et dépouillé ainsi des agglutinines étrangères au Shiga.

3° Le sérum anti-Flexner agglutine indistinctement les bacilles de Flexner et de Hiss, et à peu près pas le bacille de Shiga.

Burnet et Legroux ont décrit un *procédé extemporané* qui permet de faire rapidement un diagnostic, ou tout au moins de donner une orientation utile dès l'apparition des colonies ayant poussé sur les

milieux d'isolement, par conséquent seize heures après l'ensemencement des selles :

Déposer sur une lame deux gouttes d'émulsion microbienne effectuée avec une colonie suspecte. Dans chacune d'elles ajouter une anse de platine, trempée dans un flacon de sérum dont elle aura ainsi ramené une gouttelette. Mélanger. Observer si après un délai d'une à cinq minutes, il y a formation macroscopique d'amas.

A vrai dire, cette méthode rapide qui permet de s'orienter d'une façon précoce, ne doit jamais dispenser de pratiquer l'agglutination régulière telle qu'elle a été décrite plus haut.

Sérodiagnostic. — Il arrive parfois que, même dans les cas les plus typiques et à la période la plus favorable pour la recherche du Bacille dysentérique, ce germe ne puisse être isolé. Utiliser alors les *propriétés agglutinantes* du sérum du malade : effectuer le sérodiagnostic.

Le sang est prélevé comme pour toute recherche semblable. S'il n'existe pas de laboratoire sur place, on peut faire l'envoi du sérum en tubes scellés, au laboratoire le plus proche.

Deux procédés : l'un est rapide (microscopique), l'autre lent (macroscopique).

Procédé microscopique. — Analogue à celui que Widal et Sicard ont fait connaître pour la fièvre typhoïde. Mélanger dans des verres de montre et en proportion variable une culture en bouillon ou une culture sur gélose âgée de vingt-quatre heures, bien émulsionnée dans de l'eau physiologique, et le sérum du malade. Faire ainsi des dilutions croissantes : 1/20, 1/50, 1/75, 1/100, etc., jusqu'à 1/500 et plus, si besoin en est.

Prélever une goutte du mélange, la déposer entre lame et lamelle. Observer au bout de trente minutes avec un objectif à sec. La séroréaction ne doit être considérée comme positive que si les amas formés sont denses, s'il n'existe dans leur intervalle que quelques bacilles libres. Les agglutinations à petits amas et à nombreux bacilles libres doivent être considérées comme douteuses ou négatives ; c'est souvent le type des agglutinations spontanées, ou tout au moins sans spécificité.

Procédé macroscopique. — La technique conseillée par Ravaut est la suivante :

Délayer dans 5 centimètres cubes d'eau physiologique fluorurée (7 gr. 7 p. 1000) une anse de platine d'une culture sur gélose de vingt-quatre heures.

Répartir cette émulsion dans des tubes de 8 millimètres de diamètre (1 c. c.). Ajouter dans chacun d'eux la quantité de sérum

nécessaire pour obtenir les dilutions à des taux divers, comme précédemment. Bien mélanger. Laisser reposer à la température du laboratoire. Observer au bout de vingt-quatre heures.

Dans les tubes témoins, et quand l'agglutination est négative, l'émulsion n'est pas modifiée.

Quand l'agglutination est positive, le liquide est devenu clair et limpide, et les bacilles agglutinés forment au fond du tube un dépôt granuleux.

Enfin l'agglutination peut être incomplète, le liquide n'étant éclairci que dans la partie supérieure, la partie inférieure restant louche; au fond du tube se voit un dépôt plus ou moins dense; il est prudent de conclure en ce cas à une séroréaction négative.

Il est bien entendu qu'en raison des différences observées dans le pouvoir d'agglutination des variétés de bacilles dysentériques connues, ces épreuves (microscopique ou macroscopique) doivent être effectuées avec des échantillons de chacune d'elles; il convient donc de les soumettre toutes simultanément à l'action du sérum du malade.

De plus, en raison des coagglutinations fréquentes il y a lieu de *déterminer pour chaque germe le taux agglutinatif du sérum* à l'étude et d'effectuer les dilutions successives. Rappelons en effet que si le sérum des malades infectés par le Flexner ou le Hiss n'agglutine pas le Shiga, le sérum des sujets infectés par le Shiga agglutine souvent le Flexner et le Hiss.

Enfin, en raison des agglutinations qu'on observe souvent avec des sérums normaux, surtout avec certains échantillons de Flexner et de Hiss, il est indispensable d'exiger, pour autoriser l'étiquette de « positif » à un sérodiagnostic, un taux minimum de 1/30 à 1/50 pour le bacille de Shiga et de 1/150 pour les bacilles de Flexner et de Hiss. Burnet et Legroux conseillent même, pour le cas où l'agglutination s'en tient à ce taux minimum, de réitérer l'épreuve à deux jours d'intervalle et d'observer par une courbe si cette agglutination s'est accrue.

Difficultés dans l'interprétation des résultats. — Ce diagnostic bactériologique, basé sur les données précédentes, se heurte parfois à de grandes difficultés qui contribuent parfois à troubler l'interprétation qu'il faut donner dans tels ou tels cas déterminés; des erreurs de diagnostic peuvent en résulter. C'est surtout par les résultats de l'agglutination que la méthode semble parfois se trouver en défaut.

Il est tout d'abord incontestable que dans les cas les plus avérés, même à la période d'état, l'isolement du germe spécifique peut res-

ter négatif; une à deux fois sur dix, en effet, il ne donne que des colibacilles. Cette proportion est infiniment plus élevée au fur et à mesure que les matières diarrhéiques apparaissent et que la guérison s'annonce : le coli prend alors nettement le pas sur la flore dysentérique.

Un bon nombre de ces résultats négatifs est dû à un ensemencement trop tardif. Pour avoir la plupart des chances de succès, l'ensemencement doit avoir lieu au lit du malade, aussitôt après l'émission des selles. Sinon, le bacille dysentérique est étouffé par le développement du colibacille, surtout par les temps chauds, et ses colonies n'apparaissent pas ; quand les selles sont ensemencées quelques heures après l'émission, il est rare de trouver le bacille spécifique. Ce détail est trop souvent perdu de vue.

En d'autres cas, ce sont les épreuves d'agglutination qui se montrent infidèles : ou bien les germes ne paraissent pas agglutinables ni par le sérum des malades, ni par les sérums expérimentaux, ou bien ils le sont trop.

C'est ainsi qu'on peut isoler un bacille répondant par tous ses caractères au type Shiga : l'épreuve des fermentations sucrées est correcte; injecté sous la peau du lapin, il donne une dysenterie expérimentale typique, mais il est inagglutinable, même avec des antisérums doués d'un haut pouvoir agglutinant. Ce n'est pas une raison suffisante pour en faire d'emblée une variété spéciale. Il n'est pas rare de constater de tels faits, même pour les germes dont la spécificité n'est pas mise en doute, comme le bacille d'Eberth par exemple. On sait que certains échantillons de microbes pathogènes sont inagglutinables à la première culture, et qu'ils peuvent être agglutinés après plusieurs passages dans les milieux artificiels.

En certains cas, l'inagglutinabilité soit du Shiga, soit de ses congénères, est due à des impuretés microbiennes : quand la culture n'est pas absolument pure, les germes de souillure peuvent exercer une influence négative sur l'agglutination : il suffit alors de pratiquer un nouvel isolement et l'agglutination se montre positive. L'impureté des cultures est donc un élément important dont il faut tenir compte dans l'appréciation de ces résultats. Se rappeler que lorsqu'il s'agit de bactéries d'origine intestinale, colonie isolée ne signifie pas fatalement colonie pure (Burnet et Legroux).

En d'autres circonstances, au contraire, on constate avec le sérum des malades des agglutinations trop faciles qui contribuent à faire rapporter à la dysenterie bacillaire des affections qui lui sont complètement étrangères. Ces faits ont été signalés uniquement pour les bacilles appartenant aux types Flexner et Hiss. C'est pour cette rai-

son d'ailleurs qu'il y a lieu d'insister à nouveau avec Ravaut sur la nécessité de n'opérer qu'avec des souches jeunes, moins agglutinables que les souches anciennes, puis d'effectuer l'épreuve au taux minimum fixé respectivement à 1/50 pour le Shiga, à 1/150 pour le Flexner et le Hiss ; ces taux ne sont toutefois pas immuables et varient suivant le degré d'agglutinabilité de ces germes, fixé par des essais préalables avec des sérums normaux.

Il faut se rappeler à cet égard que le sérum de sujets ayant subi antérieurement les atteintes d'une infection typhoïde, ou une vaccination antityphoïdique et antiparatyphoïdique contient lui aussi des coagglutinines pour les bacilles dysentériques, et plus spécialement pour les bacilles de Flexner et de Hiss. On ne saurait donc être surpris que pendant la guerre, où les vaccinations antityphoïdiques ont été généralisées et répétées à plusieurs reprises, des agglutinations de ce genre aient été observées, et, en donnant lieu à des agglutinations positives, aient faussé complètement des diagnostics, et autorisé à voir des dysenteries bacillaires là où il n'en existait pas.

Pour éviter ces coagglutinations, il suffit d'employer le procédé des saturations avec le germe pouvant leur donner lieu.

Enfin une grosse cause d'erreur est due à une question de technique :

Certains bactériologistes affirment l'agglutination positive dès qu'ils constatent (avec le procédé extemporané) des amas quels qu'ils soient, petits ou volumineux avec bacilles isolés ou non dans leur intervalle. Il a été spécifié plus haut que l'épreuve ne devait être considérée comme positive qu'avec des amas denses sans bacilles libres ou avec quelques rares bacilles libres dans l'intervalle.

Cette appréciation varie encore assurément suivant le temps de contact entre la culture et le sérum à étudier : certains arrêtent l'observation après trente ou quarante-cinq minutes de contact, d'autres après deux heures. Il est bien évident que dans ces conditions les résultats sont très différents.

C'est faute de se conformer à ces règles élémentaires que l'on compromet finalement la valeur de telles épreuves, dont tous les détails techniques doivent être exécutés avec la plus grande rigueur.

VACCINATION.

Les bases expérimentales. — Vaccination par Bacilles seuls. — Les petits animaux supportent mal les inoculations de Bacilles dysentériques, vivants ou morts, destinés à les vacciner. Néanmoins, chez la souris, avec de faibles doses (0^{gr},0001 de Bacilles desséchés) injectées sous la peau, qui assurent sa survie, on peut observer ce qui suit, si plusieurs

jours après on les éprouve sous la peau avec une dose mortelle :

Dans 40 à 50 p. 100 des cas, l'immunité est acquise vers le douzième ou quinzième jour. Mais, avant ce délai, pendant que l'animal prépare son immunisation, il est plus sensible que les témoins à l'épreuve mortelle (phase négative). L'immunité obtenue dure quatre à six semaines.

Vaccination par les produits d'autolyse. — L'immunité obtenue par les produits d'autolyse donne des résultats sensiblement identiques.

Vaccination par le sérum (immunisation passive). — La vaccination préventive par le sérum confère une immunité immédiate, mais celle-ci ne dure que dix à douze jours.

Vaccination par sérum-virus. — Par cette méthode mixte, l'immunité est immédiate, mais ne dépasse pas en durée vingt à vingt-cinq jours.

Vaccination par Bacilles sensibilisés. — La préparation du vaccin est la suivante :

On pèse $0^{gr},05$ de Bacilles tués par la chaleur et desséchés dans le vide ; on les émulsionne dans II à III gouttes d'eau physiologique. Les additionner de sérum antidysentérique non chauffé, de façon que toute la masse mesure 2 centimètres cubes. Laisser reposer à la température ordinaire pendant douze heures : les microbes se déposent au fond du tube. Décanter, laver par centrifugation prolongée pour enlever l'excès de sérum. Émulsionner le dépôt dans 2 centimètres cubes d'eau physiologique. Ce liquide constitue le vaccin. L'expérience montre que :

1° L'immunité obtenue se montre vers le quatrième jour ;

2° Elle dure au moins cinq mois ;

3° Pendant que l'animal prépare son immunisation, il n'est pas plus sensible que les témoins à l'épreuve mortelle ; la période négative n'existe donc pas.

Vaccination par les voies digestives. — La souris peut être vaccinée par l'ingestion de Bacilles dysentériques vivants ou tués (Dopter) :

On émulsionne $0^{gr},005$ de Bacilles dans une petite quantité de lait ; la souris ingère facilement ce repas ; on le lui fait prendre trois jours de suite, et quinze jours après on la soumet à l'épreuve mortelle.

L'immunité est obtenue au bout de dix à douze jours ; elle dure cinq à six semaines.

Dans des expériences récentes, Besredka a montré que les lapins ayant résisté à l'ingestion de cultures chauffées de Bacilles de Shiga étaient solidement vaccinés contre des injections intraveineuses mortelles, malgré l'absence d'anticorps dans leur sérum.

Application à la vaccination préventive humaine. — La vaccination antidysentérique a été peu employée chez l'homme.

Dès 1898, Shiga signalait que, chez l'homme, l'injection sous-cutanée de cultures tuées de Bacilles dysentériques donnait lieu à des troubles locaux et généraux assez sérieux pour que la méthode ne puisse être mise en pratique. Il y renonça pour employer le procédé suivant :

Il injectait simultanément sous la peau du sérum et une demi-öse de culture sur agar. Trois à quatre jours plus tard, il injectait une dose double de culture, mais sans sérum : l'épreuve tentée sur 1 000 Japonais parut inefficace.

Plus tard, il injecta la première fois parties égales de sérum et de culture, et la deuxième fois 80 de culture pour 20 de sérum. La réaction locale et générale fut faible. Les résultats furent meilleurs que les précédents.

Depuis lors, cette vaccination préventive, en raison des fortes réactions qu'elle entraînait, semblait être tombée dans l'oubli. Dès le début de la

guerre cependant, de nouveaux essais furent tentés, en Russie notamment; on y renonça. En Angleterre, les expériences de Gibson s'orientèrent vers l'emploi du vaccin sensibilisé ; la question est encore à l'étude. Enfin, en Allemagne, on utilisa, sur 200 000 sujets environ, un vaccin composé de Bacilles, de toxine et d'antitoxine connu sous le nom de *Dysbacta*, sorte de vaccin sensibilisé; les injections pratiquées au nombre de 3, à cinq à sept jours d'intervalle, n'auraient donné que des réactions légères, locales et générales. On ignore encore les résultats acquis par ce procédé.

Quelques faits ont été signalés, montrant que la vaccination par *sérum seul* était douée d'une haute efficacité, dans les familles où un cas de dysenterie s'était produit : sur 18 sujets ainsi traités, Rosculet ne vit survenir aucun cas; sur 18 autres qui ne furent pas injectés, 14 atteintes se produisirent. Autre fait (Dr Michiels) : 15 sujets reçoivent primitivement 10 centimètres cubes de sérum; 14 restent indemnes, un seul est atteint neuf jours après l'injection.

L'immunité immédiate conférée par cette méthode constitue un avantage appréciable ; mais, comme toutes les immunités passives, elle ne dure que douze à quinze jours, si au bout de ce laps de temps les injections ne sont pas renouvelées.

SÉROTHÉRAPIE.

Préparation du sérum. — Le sérum antidysentérique est obtenu chez le cheval par inoculations hebdomadaires de cultures vivantes de Bacille de Shiga introduites dans les veines. En raison de la grande sensibilité du cheval, les premières vaccinations doivent être faites à doses faibles, un quart de centimètre cube d'une culture en bouillon, puis 0cc,5, 1, 2, 3 centimètres cubes, etc.

On arrive ainsi progressivement jusqu'à la dose de 50 centimètres cubes, suffisante pour que l'animal fournisse un sérum actif.

Propriétés du sérum. — *Sur la toxi-infection expérimentale.* — Le sérum possède des effets *préventifs* et *curatifs* contre l'action des cultures et de la toxine (Vaillard et Dopter).

1° **Effets préventifs.** — Des lapins du poids de 1 800 à 2 000 grammes reçoivent sous la peau 0cc,5 à 0cc,25 de sérum spécifique; soit au même moment, soit plusieurs heures ou même deux jours après, on leur inocule dans le tissu sous-cutané une dose de culture sûrement mortelle en quatre jours. *Tous ces animaux résistent*, tandis que les témoins meurent du troisième au quatrième jour.

Les lapins qui ont reçu le sérum présentent, au point infecté, un œdème d'étendue variable et riche en polynucléaires, contenant à leur intérieur une grande quantité de microbes. Chez les témoins, l'œdème est peu marqué, pauvre en leucocytes, et la phagocytose fait défaut. La comparaison des deux états indique bien le mécanisme de la préservation.

Les résultats sont identiques avec la toxine, mais la dose de sérum doit être augmentée (1 centimètre cube).

Il résulte donc nettement de ces faits que le sérum spécifique est à la fois *antimicrobien* ou phagocytaire et *antitoxique*.

2° **Effets curatifs.** — Intervenant vingt-quatre heures *après* l'infection

par une quantité de virus sûrement mortelle en quatre jours, le sérum assure la guérison des animaux à la dose de 1 à 2 centimètres cubes : *tous les témoins meurent du troisième au quatrième jour*; *tous les lapins traités résistent après avoir présenté un léger état morbide.*

Si l'application du sérum est retardée jusqu'à la quarante-huitième heure qui suit l'infection, la survie devient alors très aléatoire ; certains animaux guérissent, la plupart finissent par succomber.

Avec la toxine, la marge laissée à l'action curatrice du sérum devient moindre. La survie n'est pas certaine lorsque le sérum est injecté vingt-quatre heures après la dose mortelle. Après quarante-huit heures, tous les lapins meurent.

Sur la dysenterie bacillaire humaine. — Il est reconnu actuellement que l'efficacité du sérum antidysentérique (Shiga-sérum) est différente suivant qu'on l'utilise dans la dysenterie produite par le Bacille de Shiga ou par les autres germes.

Dysenterie à bacille de Shiga. — L'action curative du sérum antidysentérique sur la Shiga-dysenterie est prouvée par :

1° La diminution de la mortalité :

2° L'atténuation et la disparition rapide des phénomènes dysentériques, comparées à la lenteur habituelle de la guérison par les traitements médicamenteux usuels.

Ce sérum s'emploie en injections sous-cutanées à des doses variables suivant la gravité de l'atteinte. Il ne faut pas hésiter à répéter journellement les injections à dose même élevée (100 centimètres cubes par jour par exemple), quand l'amélioration obtenue ne paraît pas suffisante.

2° **Dysenteries produites par les sérums du 2e groupe (atoxiques).** — L'expérience montre que, si le Shiga-sérum est doué d'une efficacité incontestable sur la Shiga-dysenterie, les dysenteries dues aux autres germes ne bénéficient guère de son action ou n'en bénéficient même en aucune façon.

Dans un certain nombre d'atteintes traitées au début, on observe une certaine atténuation des phénomènes intestinaux; le nombre des selles peut même s'abaisser à 8 ou 10 par vingt-quatre heures, mais il reste à ce taux pendant de longs jours sans que la sérothérapie puisse contribuer à le modifier ; si le sérum est employé loin du début, son action paraît nulle.

Pour parer à ces échecs, on a utilisé un sérum bivalent (Shiga-Flexner-sérum) ; les résultats ont été identiques ; d'ailleurs les essais tentés avec un Flexner-sérum monovalent contre les Flexner-dysenteries se sont heurtés à des insuccès semblables.

En définitive, il est actuellement reconnu que le seul Shiga-sérum est capable de juguler la seule Shiga-dysenterie; les Flexner et Hiss-

dysenteries échappent à son action, comme à celle des sérums préparés avec les germes homologues.

Dosage du sérum. — On peut doser l'activité du sérum antidysentérique par l'appréciation de ses propriétés préventives et curatives. L'animal de choix pour ces essais est la souris.

On mélange *in vitro* $0^{gr},0005$ (une dose mortelle) de microbes desséchés dans le vide avec $0^{cc},01$ de sérum. On injecte le tout dans le péritoine d'une souris de 10 à 20 grammes : cet animal survit. D'après la méthode d'Ehrlich, un tel sérum contient 100 unités antitoxiques. D'après la notation de Roux, il est préventif à 1/2 000.

Un sérum préventif à 1/2000 est assez actif pour être employé efficacement dans le traitement de la dysenterie bacillaire.

En ce qui concerne le pouvoir curatif, un sérum qui guérit une souris de 20 grammes, injectée sous la peau par la dose minima mortelle, et qui reçoit seize heures après un quart de centimètre cube ou même un dixième de centimètre cube de sérum par la même voie, peut être considéré comme utilisable chez l'homme.

Fig. 213. — Fermentations sucrées des bacilles des types Coli et Eberth.

Fig. 214. — Fermentations sucrées des bacilles des types Coli et Eberth.

Fig. 215. — Fermentations sucrées des bacilles dysentériques.

CHAPITRE XXXVI

PROTEUS VULGARIS

Hauser a cru devoir séparer des Bacilles un groupe de microbes différenciés par leur polymorphisme et l'aspect particulier de leurs cultures sur plaques de gélatine. Macé a justement fait observer que ces caractères sont tout à fait insuffisants pour légitimer la séparation, car certains Bacilles authentiques peuvent les présenter au même degré ; les microbes du groupe *Proteus* sont des Bacilles. Mais, pour nous conformer à l'usage, nous conservons l'expression *Proteus*, universellement usitée. L'espèce la plus importante est *Proteus vulgaris*.

Le *Proteus vulgaris* est un agent habituel de la putréfaction ; on le trouve dans les produits putréfiés, dans les eaux impures ; il fait partie de la flore intestinale normale. Habituellement saprophyte, il peut être éventuellement pathogène pour l'homme.

Fig. 216. — *Proteus vulgaris*, colonie isolée sur plaque de gélatine. Gr. : 80/1 (d'après Macé).

Morphologie. — En culture, le *Proteus* est polymorphe. La forme la plus habituelle représente un bacille un peu court, 1 à 2 μ sur 0μ,8 ; on trouve en outre des éléments très petits, prenant la forme de cocci ou de coccobacilles, et des éléments plus allongés, munis ordinairement d'un certain nombre de filaments. La proportion respective de ces divers aspects varie suivant les échantillons.

Le Bacille est mobile et *cilié*. Il n'est pas *sporulé*.

Il se colore facilement et *ne prend pas le Gram*.

Cultures. — Elles se font facilement à la température ambiante ; l'optimum du développement est 20° à 25°. Anaérobie facultatif.

Gélatine. — Sur plaque (fig. 216). — L'aspect est presque caractéristique. Après quelques jours, la colonie est constituée par un

centre opaque, blanchâtre, entouré d'un large anneau filamenteux; du centre et de l'anneau partent des prolongements radiés, de forme variable, en tire-bouchon, en chapelet, etc. ; ces prolongements se détachent et cheminent sur les plaques. *La gélatine est liquéfiée.* Les plaques dégagent une odeur putride.

En piqure (fig. 217). — Liquéfaction rapide ; liquide trouble, odeur putride.

Gélose inclinée. — Couche muqueuse, blanc grisâtre, très étendue, à surface irisée. Pour la plupart des échantillons, la culture se montre très envahissante ; partant d'un point du tube, elle gagne rapidement toute la surface.

Pomme de terre. — Trait blanc jaunâtre, peu développé.

Bouillon. — Trouble uniforme, dégagement gazeux, odeur putride.

Lait. — Coagulation d'abord, puis le caillot se redissout.

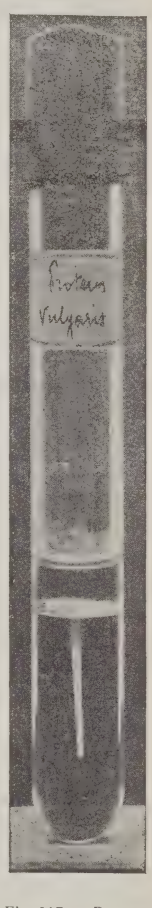


Fig 217.— *Proteus vulgaris*, culture en piqûre, sur gélatine, troisième jour.

Propriétés biologiques. — Le *Proteus* résiste à la chaleur; il succombe à 65° en quelques minutes.

Action sur les peptones. — Aux dépens des peptones, le *Proteus* donne de l'indol. Il se dégage de l'hydrogène sulfuré, cause de l'odeur putride. En même temps le milieu devient très alcalin.

Action fermentative. — Il attaque la plupart des sucres. Il transforme l'urée en carbonate d'ammoniaque.

Réaction à l'égard des sérums. — Le sérum des malades peut agglutiner le *Proteus*, cause de l'infection, à doses assez élevées (1 p. 640, Jochmann).

Klieneberger a avancé que les sérums expérimentaux préparés par inoculation d'un échantillon pathogène, agglutinent au même taux tous les *Proteus* pathogènes ; cette assertion n'est pas confirmée.

Chose assez curieuse, il semble que les sérums d'hommes ou d'animaux infectés par le *Proteus* peuvent agglutiner en même temps le Bacille typhique.

Certains échantillons de *Proteus* ont la propriété d'être agglutinés par le sérum des malades atteints de typhus exanthématique ; le type en est le *Proteus* X^{19} de Weil-Félix. (Voy. *Typhus exanthématique*). Un *Proteus* doué de propriétés agglutinatives

identiques à celles du *Proteus* X^{19}, a pu être isolé d'une plaie de guerre infectée (Sacquépée et de la Vergne).

Action pathogène. — I. **Dans les conditions naturelles, chez l'homme.** — Le *Proteus* est rarement pathogène. Il cause parfois des empoisonnements alimentaires, dus à une altération accidentelle des aliments : putréfaction de la viande (Lévi, Glücksmann) ou contamination de pommes de terre (Dieudonné).

En dehors des cas précédents, on a également rencontré le *Proteus* dans diverses affections : ictère à rechutes (Weil), diarrhée infantile, méningite (Lannelongue et Achard), pleurésie. Il est parfois associé à d'autres microbes (Streptocoque) au cours d'infections généralisées. Il intervient en outre assez fréquemment dans les infections des plaies, déterminant une toxi-infection générale fébrile souvent très prolongée (Sacquépée, de la Vergne et Dehorne).

II. **Action pathogène expérimentale.** — La *virulence* est très inégale suivant les échantillons.

Un certain nombre de Bacilles, par inoculation sous-cutanée au cobaye, déterminent des suppurations parfois étendues. L'injection intraveineuse au lapin peut provoquer la mort par intoxication.

Les Bacilles isolés des empoisonnements alimentaires sont presque toujours pathogènes. Ils peuvent déterminer chez la souris, après inoculation sous-cutanée, une septicémie mortelle. Ces mêmes Bacilles sont pathogènes par ingestion.

Toxines. — Les cultures de Bacilles pathogènes, filtrées, sont encore toxiques. La toxine, très affaiblie à 60°, est détruite à 68°.

Diagnostic de l'infection. — Il est très facile de constater la présence du *Proteus*. Mais il ne suffit pas de le déceler pour conclure à son action pathogène : c'est en effet un hôte habituel des voies digestives, et c'est de plus un des agents très fréquents d'infections cadavériques. Sa présence dans les maladies intestinales ou sur le cadavre ne peut donc revêtir une signification pathologique que si l'étiologie, la clinique, les réactions sériques (agglutination) et l'expérimentation en imposent l'idée.

Au contraire, la présence du *Proteus* sur le vivant, au cours d'infections générales ou localisées aux organes fermés, est toujours un fait pathologique.

Proteus mirabilis. — Très voisin du précédent, dont il ne se distingue guère que par la présence de formes d'involution un peu spéciales (grosses formes arrondies), par l'aspect brunâtre des cultures sur gélatine et la finesse des prolongements radiés en cultures sur plaques de gélatine. Cette espèce a le même habitat que la précédente; elle a de même été signalée dans les empoisonnements alimentaires (Pfuhl).

CHAPITRE XXXVII

BACILLE DE PFEIFFER

Ce Bacille a été découvert en 1890 par Pfeiffer dans les produits d'expectoration pulmonaire des malades atteints d'influenza ; ayant constaté son absence chez les sujets non grippés, il lui accorda un caractère de spécificité tel qu'il le dénomma « Bacille de l'influenza ». Aussitôt après la publication de son travail, de nombreux auteurs confirmèrent cette découverte (Kitasato, Weichselbaum, Huber, Klein, etc.).

Depuis quelques années cependant, cette spécificité grippale est contestée. En effet, le Bacille a été retrouvé tout d'abord en de nombreux cas où la grippe n'était pas en cause; on l'a rencontré dans les bronchopneumonies ou bronchites banales, dans les crachats de coqueluche, de rougeole, bref dans de multiples atteintes étrangères à l'influenza. De plus, en plusieurs épidémies de grippe, il a été décelé rarement; en d'autres, comme en 1904-1905 (Bezançon et Israels de Jong) il était absent.

Dans ces conditions, il est difficile d'attribuer à ce Coccobacille particulier la spécificité à laquelle Pfeiffer l'avait élevé. Il est néanmoins intéressant et utile à étudier, car à lui seul il peut provoquer des états infectieux qui ne semblent relever que de son action pathogène.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Ce germe est un bâtonnet très court, très grêle (fig. 218), le plus petit des microbes pathogènes perceptibles au microscope ; ses extrémités sont arrondies; deux fois plus long que large, prenant par conséquent la forme d'un Coccobacille. Ses éléments sont isolés ou groupés deux à deux ; il forme parfois des chaînettes. A l'état frais, il est doué de mobilité et ne sporule pas.

Dans les crachats, il se trouve parfois en amas et est parfois inclus dans les leucocytes ; on ne lui connaît pas de capsules.

Dans les cultures, il est un peu plus long ; il se montre parfois, d'après Klein, sous l'aspect de filaments strepto-bacillaires ; enfin,

dans les vieilles cultures, il subit des phénomènes d'involution (formes ovoïdes, en massue, ou allongées et sinueuses).

Coloration. — Le Bacille de Pfeiffer se colore faiblement par les couleurs d'aniline usuelles. Pour le bien percevoir, il faut recourir de préférence à l'emploi de la fuchsine de Ziehl diluée, ou de la thionine phéniquée, en ayant soin de prolonger la coloration pendant dix à quinze minutes. *Il ne prend pas le Gram.*

Dans les coupes, il est en général assez peu perceptible. Pour le

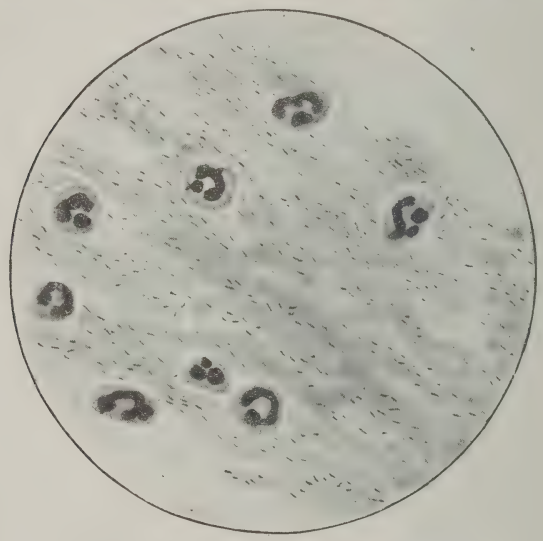


Fig. 218. — Bacille de Pfeiffer dans les crachats.

bien mettre en évidence, il faut, d'après Pfeiffer, laisser la coupe en contact avec une solution de fuchsine diluée pendant trente minutes; décolorer et déshydrater par l'alcool absolu légèrement acétisé; arrêter la décoloration quand la teinte devient rose violacé; éclaircir au xylol et monter. Le Bacille de Pfeiffer se détache alors en rouge vif, tranchant sur le fond faiblement teinté en rose.

CULTURES.

Strictement aérobie, le Bacille de Pfeiffer ne donne aucune culture sur les milieux usuels (1). Celle-ci ne se produit que si on les addi-

(1) Toutefois il n'est pas rare d'observer une culture quand une parcelle de crachats a été ensemencée sur gélose ordinaire; elle ne s'effectue qu'à la faveur des matières albuminoïdes

tionne de sang ou d'hémoglobine, ce qui lui a fait donner le qualificatif d'*hémoglobinophile*. Sur les milieux ainsi préparés, il pousse entre 25° et 42° ; 37° est la température optima.

Bouillon-sang. — En bouillon additionné de sang de pigeon, le Bacille de Pfeiffer pousse assez bien ; un trouble général apparaît tout d'abord, puis des flocons blanchâtres se déposent au fond du tube, et le milieu s'éclaircit.

Gélose-sang. — A la surface d'un tube de gélose ordinaire ou d'une boîte de Petri contenant ce milieu, on verse une ou deux grosses gouttes de sang que l'on étale (sang de lapin, de pigeon, sang humain). On ensemence une émulsion de crachats contenant le germe à l'étude. Après trente-six heures environ d'étuve à 37°, se développent de très fines colonies transparentes, plus ténues encore que celles du pneumocoque, n'étant perceptibles presque qu'à la loupe : elles sont toujours isolées, jamais confluentes.

Sur *sang gélosé*, la culture présente le même aspect.

Les cultures provenant de l'ensemencement d'un crachat ne sont jamais pures ; en même temps que le Bacille de Pfeiffer, on perçoit des colonies de Streptocoques, Staphylocoques, etc., provenant de la flore banale des voies respiratoires. Fait curieux, Grossberger a constaté qu'autour de ces colonies, celles qui appartiennent au Coccobacille sont beaucoup plus volumineuses, et, en vingt-quatre heures, sont perceptibles à l'œil nu ; Meunier, Rosenthal ont fait des constatations identiques.

Cette action favorisante peut d'ailleurs être prouvée par l'ensemencement des cultures.

Sur un tube de gélose-sang, on ensemence en surface une culture pure de Coccobacille. Après trois heures de séjour à l'étuve, permettant l'évaporation du liquide, on effectue des ensemencements punctiformes à l'aide de staphylocoques ; des colonies géantes de Coccobacille poussent en satellites autour des colonies de staphylocoque.

Rosenthal pense que cette action favorisante est due à une modification du milieu, produite par la sécrétion de substances par les germes surajoutés. Si, en effet, on coule dans une boîte de Petri une culture de staphylocoques tuée par la chaleur, et qu'on l'additionne de sang, on obtient un milieu où le Coccobacille pousse sous forme de colonies géantes.

Pour Neisser, cette action favorisante peut être mise en évidence dans les tubes de gélose ordinaire Ensemencé seul, le Coccobacille de Pfeiffer n'y pousse pas ; en symbiose avec les bactéries précédentes, il y donne une culture.

Gélose-hémoglobine. — Les études de Pfeiffer ont montré que la substance qui, dans le sang, permettait la culture de son Coccobacille était l'hémoglobine. Huber a additionné la gélose d'hémo-

nutritives du crachat lui-même apporté avec l'anse de platine. Mais, si on repique sur gélose ordinaire les colonies qui y ont poussé, cette culture reste stérile.

globine cristallisée. La culture présente le même aspect que sur gélose sang.

Sérum liquide. — En sérum liquide où se trouve dissoute une certaine quantité d'hémoglobine, le Bacille de Pfeiffer pousse assez abondamment.

Milieux vitaminés. — On sait par des travaux récents que l'influence favorisante des liquides naturels (sang, sérum, ascite, etc.) sur les cultures s'explique par la présence dans ces humeurs de vitamines de croissance.

Agulhon et Legroux ont appliqué cette notion à la préparation de milieux très favorables au développement artificiel du bacille de Pfeiffer.

Méthode A. — On précipite du sang défibriné par quatre volumes d'alcool absolu ; après avoir laissé le contact s'établir pendant trente minutes on centrifuge pour éliminer l'alcool. On reprend alors le précipité par le même volume d'eau physiologique ; laisser en contact pendant une heure, en agitant. Filtrer sur bougie Chamberland F. Le liquide ainsi obtenu est riche en vitamines.

Méthode B (recommandée). — Chauffer pendant quinze minutes au bain-marie à 80° du sang défibriné étendu de 4 volumes d'eau physiologique. Agiter fréquemment pendant cette opération. Filtrer à la bougie Chamberland F.

On obtient ainsi une solution aqueuse de teinte brunâtre, un peu opalescente, plus active que la solution obtenue par le procédé précédent.

Ces solutions ajoutées aux milieux usuels à la dose de 5 ou 10 p. 100, permettent d'obtenir des cultures abondantes de Bacille de Pfeiffer.

Les expériences ultérieures montrèrent aux auteurs que les vitamines se trouvent fixées dans le stroma globulaire.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité, résistance. — Le Bacille de Pfeiffer, dans les cultures, est très fragile ; conservé à la température du laboratoire, il succombe en cinq ou six jours (Rosenthal). D'après Bezançon, la vitalité est plus grande dans les milieux additionnés d'hémoglobine, surtout en sang gélosé ; il y vivrait dix à quinze jours et pourrait être conservé par des repiquages successifs.

La dessiccation le tue en deux heures à 37°, en un jour à la température du laboratoire. La chaleur (température de 56°) le fait rapidement succomber.

Dans les crachats sa résistance est plus forte ; il peut y rester vivant pendant deux semaines environ.

Production de toxine. — Plusieurs auteurs ont constaté que les cultures tuées (chaleur ou chloroforme) étaient douées de toxicité pour l'animal (L. Martin et Dujardin-Beaumetz).

Les expériences de Slatinéano tendent à prouver qu'il s'agit d'une toxine retenue par le corps microbien, en un mot une *endotoxine*. On tue par chauffage à 56° une émulsion de bacilles obtenus par raclage de culture sur gélose-sang ; on centrifuge, puis on dessèche. Additionner $0^{gr},25$ de la poudre obtenue de 10 centimètres cubes d'eau distillée et de sérum normal de cheval à parties égales ; conserver à la glacière pendant douze heures et centrifuger à nouveau ; le liquide décanté est toxique pour le cobaye en injection intrapéritonéale (5 centimètres cubes) et intracérébrale (1/20 de centimètre cube).

Agglutinabilité. — L'agglutination, nulle avec le sérum de l'homme grippé, est au contraire positive avec le sérum des animaux vaccinés contre ce germe.

ACTION PATHOGÈNE.

Chez l'homme. — Le Bacille de Pfeiffer se rencontre dans la muqueuse des voies respiratoires à l'état saprophytique ; mais, à l'occasion, il peut devenir virulent et pathogène, et déterminer, seul ou associé à d'autres germes d'ordre banal, des infections graves de l'arbre respiratoire, et même exercer au loin son action nocive.

Il se localise de préférence, et avec une certaine électivité, sur les muqueuses respiratoires, depuis les fosses nasales jusqu'aux plus fines bronchioles. Il détermine des bronchopneumonies, des *pleurésies purulentes*. En pathologie infantile, il n'est pas rare de le voir s'associer aux virus des fièvres éruptives, notamment de la rougeole. Des *méningites purulentes* mortelles à Bacilles de Pfeiffer ont été signalées.

On a cru qu'il n'envahissait jamais la circulation sanguine. Cependant Cornil et Chantemesse, puis récemment Rosenthal, l'ont décelé dans le sang du cœur. Entre les mains de Ghedini, l'hémoculture, pratiquée pendant la vie, aurait donné 18 résultats positifs sur 28.

D'ailleurs, on le rencontre dans certaines *ostéopériostites*, qu'il ne peut provoquer qu'après envahissement de la circulation.

Action pathogène expérimentale. — La plupart des animaux sont peu sensibles à l'action du Bacille de Pfeiffer ; certains même sont réfractaires, tels le porc, le rat, le pigeon, le chien.

Lapin. — Le lapin est peu sensible.

En *injection sous-cutanée*, le Coccobacille de Pfeiffer détermine des abcès et l'animal résiste.

En *injection intrapéritonéale*, une péritonite purulente se déclare.

En *injection intraveineuse*, de fortes doses de culture (deux à trois tubes de gélose-sang) peuvent amener la mort (Meunier, Elmassian); en certains cas, l'animal meurt intoxiqué, car le sang reste stérile. En d'autres, on observe une véritable septicémie avec déterminations broncho-pulmonaires et rénales.

En *injection intracérébrale* (Cantani, Slatinéano), la mort est rapide. Il en est de même quand l'injection est faite par la *voie rachidienne* (L. Martin et Dujardin-Beaumetz).

Cobaye. — Chez le cobaye, Delius et Kolle, Elmassian ont réalisé une péritonite mortelle par injection intrapéritonéale. Infecté par les autres voies, le cobaye est très résistant.

Singe. — Pfeiffer a infecté des singes en leur inoculant directement dans la *trachée* des cultures de Coccobacille ou des crachats de sujets atteints d'influenza. Mêmes résultats par inoculation dans les *fosses nasales* ou dans le *parenchyme pulmonaire*. D'après lui, les animaux présentent les symptômes de l'influenza humaine, mais ils survivent. Quand l'inoculation est mortelle, il se produit des lésions bronchopneumoniques semblables à celles de l'homme.

Associations secondaires. — Dans les cultures, on a vu l'action favorisante, *in vitro*, des colonies de germes banaux (Streptocoque, Colibacille, Staphylocoque doré) sur le développement des colonies du Coccobacille.

Cette influence s'exerce aussi *in vivo*. Rosenthal a inoculé dans le poumon du lapin une culture de Coccobacille et de Staphylocoque doré *non virulent*; il détermina ainsi une congestion pulmonaire accompagnée de septicémie. Un résultat analogue fut obtenu par Jacobson, qui injecta dans les veines le Bacille et du Streptocoque; il obtint une septicémie due au Bacille de Pfeiffer.

RECHERCHE DU COCCOBACILLE DE PFEIFFER.

La recherche s'effectue surtout dans les mucosités rhino-pharyngées et les crachats.

Prélever la partie la plus épaisse de la mucosité recueillie; laver à plusieurs reprises dans l'eau stérilisée.

Colorer par la fuchsine diluée les frottis effectués, et de préférence par la méthode de Gram composée.

En aucun cas, on ne saurait se dispenser de l'ensemencement qui donne les caractères de culture et permet la différenciation avec

des bactéries saprophytes de la bouche ou de l'arrière-gorge, étrangères au Coccobacille de Pfeiffer. L'ensemencement devra être pratiqué sur gélose au sang, ou de préférence sur gélose vitaminée.

IMMUNITÉ.

Les premiers essais destinés à vacciner les animaux contre le Bacille de Pfeiffer n'ont pas été couronnés de succès: Kolle et Delius n'ont obtenu que des résultats négatifs.

Entre les mains de Slatinéano et de Cantani, les mêmes recherches ont montré que l'on pouvait conférer à l'animal un certain degré d'immunité.

On injecte sous la peau de cobayes des doses progressivement croissantes de cultures tuées à 56° pendant une heure. Après un certain temps de ce traitement plus ou moins prolongé, au cours duquel beaucoup d'entre eux succombent, on éprouve la résistance de ceux qui ont résisté par une inoculation dans le péritoine de doses mortelles : il survivent ; certains même supportent impunément cent doses mortelles ; enfin leur sérum possède des propriétés préventives quand on le mélange à une culture virulente.

Latapie a pu immuniser une chèvre après injections multiples de cultures mortes, puis vivantes. Après un an de ce traitement, son sérum (devenu très agglutinant) injecté sous la peau du cobaye, (1 à 3 centimètres cubes) la veille de l'épreuve, ou dans les veines quelques heures avant cette dernière, le protégeait nettement.

Ces essais sont de nature à montrer la possibilité d'une sérothérapie destinée à lutter contre les effets pathogènes de ce germe.

Enfin l'épidémie de grippe observée pendant la guerre a incité plusieurs auteurs anglais et français à préparer un vaccin polyvalent dans la composition duquel entrent des cultures de Bacille de Pfeiffer, à côté de cultures de Pneumocoque et de Streptocoque.

Suivant la conception qu'ils se faisaient du rôle joué par le Bacille de Pfeiffer, les uns destinaient ce vaccin à la prévention de la grippe et de ses associations secondaires, les autres uniquement à ces dernières.

Certains essais de vaccinothérapie contre les pneumonies et bronchopneumonies grippales ont paru favorables quand les germes pathogènes de ces affections correspondaient aux microbes et races de microbes ayant servi à préparer le vaccin.

CHAPITRE XXXVIII

BACILLE DE WEEKS

(Conjonctivite aiguë contagieuse).

Weeks, puis Morax ont décrit dans l'exsudat de la conjonctivite aiguë contagieuse un Bacille présentant beaucoup d'analogie avec le Coccobacille de Pfeiffer.

Aspect microscopique. — Bâtonnet très fin, très court, isolé ou en diplobacille, voire même en chaînettes, dépourvu de capsules et de spores, prenant parfois une forme allongée.

Il est immobile.

Dans l'exsudat, il est extracellulaire ou inclus dans les leucocytes polynucléaires.

Coloration. — Se colore par les colorants usuels. Ne prend pas le Gram.

Cultures. — Il pousse mal sur les milieux ordinaires. Sur gélose-sang, ou gélose-sérum, ou gélose-ascite, il donne des colonies semblables à celles du Bacille de Pfeiffer. C'est un aérobie strict.

Pouvoir pathogène. — Une trace de culture déposée sur la conjonctive de l'homme détermine une conjonctive aiguë. L'inoculation conjonctivale chez l'animal ne produit aucun trouble appréciable.

CHAPITRE XXXIX

COCCOBACILLE DE LA COQUELUCHE

Les nombreuses recherches effectuées par une foule d'auteurs, et destinées à découvrir l'agent pathogène de la coqueluche étaient restées vaines jusqu'en 1906. On a accusé des bactéries diverses de jouer un rôle spécifique dans l'étiologie de cette infection. En 1906, Bordet et Gengou ont signalé, dans l'exsudat bronchique, l'existence d'un Coccobacille ressemblant au Bacille de Pfeiffer, mais en différant par ses caractères de culture et ses réactions vis-à-vis du sérum des coquelucheux. La spécificité du Coccobacille de Bordet et Gengou est nettement prouvée par son agglutinabilité avec le sérum des malades et son pouvoir de fixer le complément en présence de ce dernier.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le microbe de la coqueluche est un petit bâtonnet ovoïde dans sa forme moyenne, parfois un peu allongé, parfois plus court au point de ressembler à un microcoque. La coloration teinte ses contours et ses extrémités polaires; le centre, au contraire, reste incolore.

Il se montre à l'état isolé; quelquefois il est accolé à un germe semblable pour figurer un diplococcobacille. Dans l'exsudat bronchique, il est libre (fig. 219), mais parfois phagocyté.

Dans les cultures en milieu solide, ses dimensions sont un peu plus petites, mais il reprend sa forme primitive quand on le réensemence au milieu liquide.

Coloration. — Les solutions d'aniline le colorent faiblement, se fixant de préférence, comme il a été dit, aux deux pôles opposés. Il se décolore par la méthode de Gram.

Bordet et Gengou conseillent de colorer par le bleu de méthylène phéniqué ordinaire, ou le bleu de Kühne, ou mieux encore par le bleu de toluidine phéniqué, préparé comme suit :

Bleu de toluidine (Grübler).....	5 grammes.
Alcool.....	100 cent. cubes.
Eau.....	500 —

On attend la dissolution complète, puis on ajoute 500 grammes d'eau phéniquée à 5 p. 100. Filtrer après vingt-quatre ou quarante-huit heures.

CULTURES.

Le microbe de la coqueluche est un aérobie strict. Il ne cultive pas sur les milieux ordinaires. Comme beaucoup de microbes fragiles, il

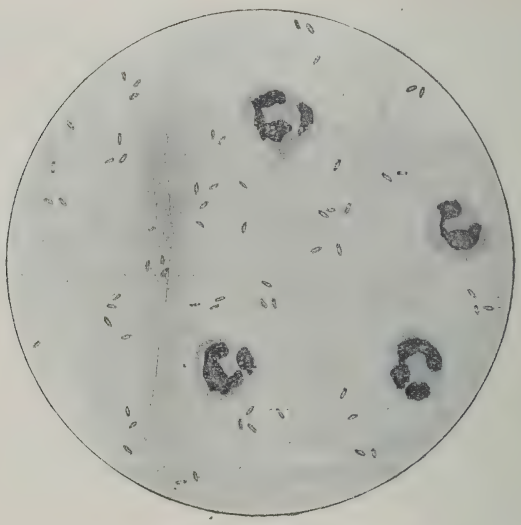


Fig. 219. — Cocobacille de la coqueluche dans un crachat.

exige, pour se développer, des milieux dans la composition desquels entre l'albumine et de préférence l'albumine humaine.

Milieux solides. — Bordet et Gengou préconisent le milieu suivant :

A 200 centimètres cubes d'eau glycérinée à 4 p. 100, ajouter 100 grammes de pommes de terre coupées en tranches. Cuire à l'autoclave, séparer le liquide, et l'on obtient ainsi un extrait concentré glycériné de pommes de terre.

A 50 centimètres cubes de cet extrait, ajouter 150 centimètres cubes d'eau physiologique et 5 grammes de gélose. Faire fondre à l'autoclave. Répartir en tubes. Stériliser.

A chaque tube contenant ce milieu fondu, ajouter partie égale de sang défibriné de lapin ou d'homme. Agiter et laisser figer en tubes inclinés.

Sur ce milieu ensemencé avec l'exsudat bronchique coquelucheux prélevé à la période initiale, la culture se développe avec une certaine lenteur ; au bout de vingt-quatre heures à 37°, elle n'apparaît même pas à l'œil nu.

Vers le cinquième jour cependant, à côté des colonies de la flore banale des bronches ou de la salive, apparaissent des colonies blanches, saillantes, à bords nettement circonscrits. Ce sont celles des Coccobacilles coquelucheux.

Si elles sont assez confluentes, il se forme une strie opaque, faisant une assez forte saillie : les jours suivants, elle ne s'étale pas, mais s'épaissit, et les bords sont inclinés presque à pic.

Les repiquages peuvent être effectués en gélose-ascite, où se développe alors une strie blanche, « d'aspect gras et humide, assez opaque, demeurant, après deux à trois jours, à peu près aussi épaisse que l'est une culture de Bacille typhique sur gélose ordinaire » (Bordet et Gengou). Le microbe finit donc par s'acclimater à la vie artificielle.

Milieux liquides. — Les cultures peuvent encore s'obtenir en bouillon glycériné à 1 p. 100, additionné de sang ou de sérum de lapin à parties égales. On peut encore employer le sérum de cheval normal chauffé à 57° pendant quarante-cinq minutes.

Dans les milieux liquides, le germe ne se développe bien qu'en de bonnes conditions d'aérobiose ; si le tube est vertical, le développement est long et pénible ; s'il est tenu presque horizontalement, il se produit un trouble accentué dans la partie où la couche de liquide est le moins épaisse. Aussi faut-il utiliser de préférence la culture liquide répartie dans des fioles ou boîtes à fond large et plat, sur une épaisseur de 1 centimètre. La culture présente l'aspect suivant : le liquide est à peine troublé, et, vers le quatrième ou cinquième jour, on perçoit au fond du vase un dépôt blanchâtre, épais et visqueux.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

On ne possède encore aucune indication concernant la vitalité de ce germe dans les produits pathologiques, ni même les cultures.

Réactions vis-à-vis de l'immun-sérum. — Agglutination. — Bordet et Gengou ont montré que le microbe de la coqueluche est nettement agglutinable par le sérum des chevaux vaccinés par ses cultures, de même aussi par le sérum des convalescents de coque-

luche ; par contre, le sérum de sujets n'ayant jamais contracté l'affection reste totalement inactif vis-à-vis de lui.

Fixation du complément. — Il fixe le complément quand on le met en présence d'un antisérum, ou du sérum de convalescents. Cette propriété a été utilisée pour le diagnostic (Voy. plus loin).

Pouvoir pathogène expérimental. — L'injection dans le péritoine du *cobaye* d'une émulsion provenant d'une culture en milieu solide âgée de deux à trois jours (1^{mg},5 à 2 milligrammes de microbes) amène la mort de l'animal en vingt-quatre ou quarante-huit heures.

L'autopsie montre l'existence d'un exsudat péritonéal pauvre en microbes, dont la plupart sont phagocytés; sur le péritoine sont disséminées des taches pétéchiales ; les viscères sont congestionnés ; le foie est en état de dégénérescence ; enfin on constate un épanchement liquide, teinté en rouge, dans la plèvre et le péricarde.

Chez le *lapin*, les lésions sont identiques.

L'injection des cultures tuées par le toluol ou une température de 56° pendant trente minutes produit les mêmes troubles, mais, pour tuer l'animal, la dose de microbes doit être supérieure.

Signalons enfin les expériences de Klimenko, qui a reproduit la coqueluche, chez les singes inférieurs et les jeunes chiens, par inoculation au niveau du naso-pharynx d'une culture de Coccobacille de Bordet et Gengou, ou en plaçant ces animaux dans un brouillard microbien provenant de la pulvérisation d'une culture de bacilles coquelucheux.

Les singes présentent de la fièvre, du catarrhe oculo-nasal, de l'éternuement, de la toux rauque, avec vomissements, avec ou sans quintes.

Toxine. — Quand on injecte les cultures vivantes au cobaye ou au lapin, le microbe ne se multiplie pas; souvent même il disparaît, et cependant l'animal succombe. Le microbe semble donc agir par une véritable intoxication. Bordet et Gengou ont en effet extrait une toxine des cultures en milieu solide.

Mode d'obtention. — Les cultures en milieu liquide sont peu toxiques. Le liquide, en effet, décanté après centrifugation, et inoculé au cobaye, ne provoque aucun trouble appréciable.

En traitant les cultures en milieux solides par le procédé de Besredka (Voy. p. 553) pour la préparation des endotoxines, ils ont obtenu au contraire un produit éminemment toxique.

Effets de la toxine sur l'animal. — Injectée à la dose d'un quart ou un demi-centimètre cube *dans le péritoine* du cobaye, elle tue l'animal en vingt-quatre heures. L'autopsie montre une exsudation péritonéale hémorragique abondante. Le péritoine est parsemé de pétéchies; en un mot, les lésions

sont analogues à celles que provoque l'injection de microbes vivants.

En injection *intraveineuse* (1 à 2 centimètres cubes) chez le lapin, ce dernier succombe en dix-huit heures; à l'autopsie, on observe de la congestion du foie et des reins; les capsules surrénales présentent des foyers hémorragiques.

L'injection *sous-cutanée* chez le cobaye détermine au point d'inoculation un œdème hémorragique qui, quarante heures après, s'affaisse et est remplacé par une plaque noire nécrotique qui s'élimine les jours suivants, formant ainsi une ulcération.

Ce poison, qui est sans aucun doute contenu dans le corps microbien, présente donc des propriétés nécrosantes marquées. Bordet et Gengou font observer que les lésions de nécrose constatées par Léonardo Dominici chez l'enfant, dans la région sus-glottique et sous-glottique, sont du même ordre et relèvent vraisemblablement de la toxine coquelucheuse. La nature de cette lésion expliquerait, d'après eux, la persistance de la toux quinteuse, à un moment où le Bacille spécifique devient rare ou même disparaît.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

En dehors des moyens cliniques, parfois insuffisants quand l'atteinte n'est pas nettement caractérisée, la coqueluche peut être diagnostiquée par les procédés de laboratoire.

1° **Recherche du microbe.** — La recherche du germe spécifique ne peut être un moyen pratique que si elle est effectuée à la période initiale de l'infection. Bordet et Gengou ont en effet montré qu'il ne se trouve en grande abondance dans l'exsudat bronchique que dans les premiers jours; plus tard, il est associé à de nombreuses bactéries banales, et son isolement devient difficile, sinon impossible.

Ensemencer l'exsudat sur tubes ou boîtes de Petri contenant de la *gélose-pomme de terre au sang*, préparée comme il est dit plus haut. Identifier les colonies par les caractères morphologiques et culturaux précédemment décrits.

On ne devra pas confondre le Coccobacille coquelucheux avec le Bacille de Pfeiffer, qui présente, à première vue, une certaine analogie avec lui. Le Bacille de Pfeiffer est plus long; ses colonies sont bleuâtres et diaphanes; il ne pousse que sur les milieux contenant de l'hémoglobine; les formes d'involution sont fréquentes; enfin il ne présente aucune agglutinabilité vis-à-vis d'un antisérum ; la fixation du complément reste aussi négative.

2° **Séro-agglutination.** — On peut tenter un sérodiagnostic en mettant en présence d'une émulsion de bacilles spécifiques le sérum du sujet. Mais l'agglutination ne se produit que si ce dernier est atteint depuis quelque temps, souvent pendant la période de convalescence; la réaction n'est toutefois pas constante; c'est ce qui limite son emploi dans les recherches diagnostiques.

3° **Fixation du complément.** — La propriété du virus coquelucheux de fixer le complément en présence du sérum de coquelucheux a été appliquée au diagnostic de la coqueluche par Bordet et Gengou, puis Alb Delcourt. Par cette méthode, on peut ainsi dépister non seulement les atteintes avérées, mais les cas frustes, les cas larvés où, les symptômes ne se montrant pas au complet, l'affection peut rester méconnue.

Ce procédé peut être de la plus haute utilité au point de vue prophylactique pour dépister des cas qui risqueraient de passer inaperçus.

SÉROTHÉRAPIE ET VACCINOTHÉRAPIE.

Bordet et Gengou ont obtenu un *sérum anticoquelucheux* en vaccinant le cheval à l'aide de cultures vivantes.

Il est agglutinant, précipitant, sensibilisateur, et paraît agir davantage sur les microbes que sur la toxine.

Une première série d'essais curatifs avait été tentée par les auteurs ; les résultats avaient été encourageants. Duthoit vient d'appliquer cette nouvelle sérothérapie sur 21 enfants atteints de coqueluche. Voici ses constatations : le lendemain de l'injection sous-cutanée de 10 centimètres cubes de sérum, ou quelques jours plus tard, le nombre des quintes diminue, les reprises deviennent plus rares, les vomissements s'arrêtent; de plus l'expectoration devient plus facile ; habituellement muqueuse, elle devient muco-purulente et jaunâtre comme dans un rhume de poitrine sur son déclin. La guérison est plus rapide dans les cas traités que dans ceux qui ont subi la thérapeutique usuelle.

Ch. Nicolle et Conor ont imaginé de traiter la coqueluche par des cultures du microbe spécifique de Bordet et Gengou (cultures de quarante-huit heures sur pomme de terre-gélose-sang, émulsionnées dans l'eau physiologique, ayant subi une température de 46° pendant trente minutes, puis centrifugées et lavées). Ces injections vaccinantes sont pratiquées dans les veines ; chez le tout jeune enfant, elles sont effectuées sous la peau. En général, l'amélioration obtenue est très rapide; dès la première ou deuxième inoculation, les quintes diminuent de nombre et d'intensité.

Ch. J. Bloom conclut de ses essais à l'efficacité curative de la méthode, grâce à laquelle les complications sont plus rares, la mortalité amoindrie, et la durée de la maladie plus courte.

Des essais de vaccination préventive ont donné entre les mains de Hess, Saunders, Johnson, White, Zahorsky, des résultats encourageants; d'après Hess, sur 244 enfants vaccinés, 21 ont contracté la coqueluche, alors que sur 75 non vaccinés 59 en ont été atteints.

CHAPITRE XL

BACILLE DU CHANCRE MOU

Le germe spécifique du chancre mou a été découvert par Ducrey. Les travaux ultérieurs de Unna, Ch. Nicolle, Queyrat, Bezançon et

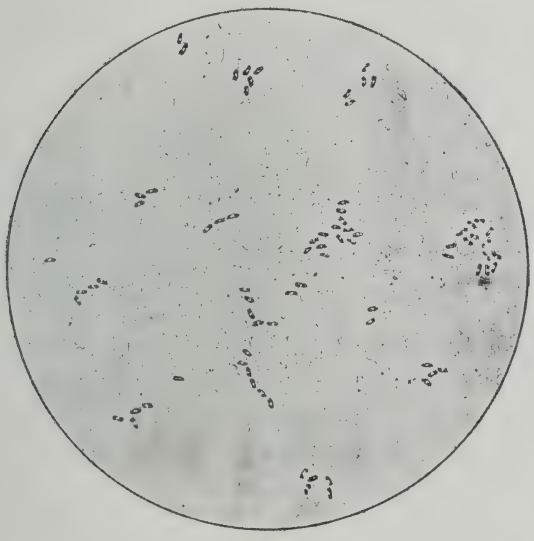


Fig. 220. — Bacille de Ducrey (culture sur sang gélosé).

ses collaborateurs Griffon et L. Lesourd ont contribué à déterminer la plupart de ses caractères.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — C'est un Bacille assez court à extrémités arrondies; il est long de 1 μ, 50 à 2 μ, large de 0 μ, 50. Son aspect diffère un peu suivant qu'on l'observe dans le pus du chancre ou dans les cultures.

Dans le pus, on le trouve soit extracellulaire, soit inclus dans les leucocytes d'aspect pyoïde, isolé ou formant des chaînettes (fig. 221), les unes courtes, les autres longues. Les chaînettes peuvent se grouper en amas plus ou moins volumineux. Queyrat a signalé un aspect parfois cocciforme.

Dans les cultures : en milieu solide, le Bacille de Ducrey est un peu plus épais et trapu (fig. 220), disposé quelquefois en courtes chaînettes. Dans l'eau de condensation, les chaînettes sont plus abondantes, plus longues, mais les éléments sont plus grêles.

Enfin, en sérum liquide, on observe surtout des chaînettes longues, flexueuses, voire même enchevêtrées.

Coloration. — Les couleurs d'aniline usuelles le colorent bien, mais la partie centrale reste incolore, contrastant avec les extrémités qui fixent énergiquement la substance colorante. Il prend ainsi l'aspect d'un Bacille en navette. La fuchsine de Ziehl diluée à 1/10, la thionine phéniquée sont les colorants de choix. *Il ne prend pas le Gram.*

CULTURES.

Le Bacille de Ducrey est aérobie; il ne cultive sur aucun des milieux usuels. Après diverses tentatives, notamment celles de Petersen à l'aide de gélose-sérum, Bezançon, Griffon et L. Lesourd se sont servis avantageusement du sang gélosé préparé par leur procédé.

Gélose-sang. — En vingt-quatre ou quarante-huit heures de séjour à l'étuve à 37°, apparaissent des colonies rondes, saillantes, grisâtres, opaques, de 1 à 2 millimètres de diamètre. Quand on veut en prélever une parcelle, la colonie a « tendance à fuir en masse devant le fil de platine »; elle est difficile à émulsionner dans une gouttelette d'eau déposée sur une lame.

Repiquées sur le même milieu, les colonies ont tendance à devenir plus volumineuses et plus abondantes, mais ne deviennent jamais confluentes. De multiples passages ne permettent pas un acclimatement capable de faire obtenir une culture sur les milieux usuels.

Sérum liquide. — Culture grêle, qui se manifeste par un léger trouble avec quelques flocons.

SIÈGE DU BACILLE DE DUCREY.

Le Bacille du chancre mou siège dans le pus de la chancrelle, où il se trouve associé aux bactéries habituelles de la suppuration, le Staphylocoque notamment. Dans les coupes, le Bacille de Ducrey se

rencontre dans le derme. Là, on le décèle entre les fibres conjonctives, mais il n'envahit ni les cellules fixes, ni les vaisseaux.

Il est perceptible encore dans les bubons, où il accède selon toute vraisemblance par la voie lymphatique. Il s'y trouve en minime abondance; l'examen direct du suc ganglionnaire ne permet pas toujours de l'y déceler.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

Homme. — Il est facile de reproduire expérimentalement le chancre mou chez l'homme, en lui inoculant le pus de la chancrelle.

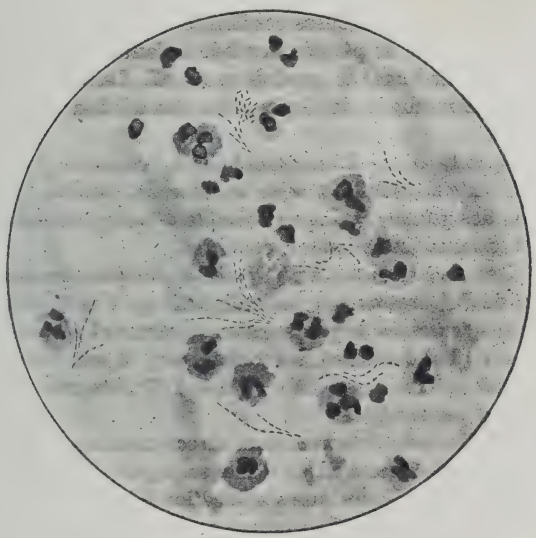


Fig. 221. — Frottis de chancre mou. Bacilles de Ducrey.

Il suffit de pratiquer sur un point du tégument une excoriation superficielle à l'aide d'une lancette chargée du virus. Dès la fin du premier jour, la lésion spécifique commence à se produire; c'est vers le quatrième ou sixième jour qu'elle revêt son aspect typique.

Le même résultat est obtenu avec l'inoculation de cultures.

Animal. — On n'a pas encore pu reproduire le chancre mou chez les animaux de laboratoire, ni avec le pus de chancrelle, ni avec les cultures. Le singe seul est réceptif : divers auteurs ont reproduit le chancre mou chez le macaque et le bonnet chinois

par inoculation de pus chancreux humain. Tomasczewski, inoculant du pus chancreux d'un singe infecté à l'homme, a observé chez ce dernier l'évolution d'un chancre mou typique. Thibierge, Ravaut et Le Sourd ont déterminé sur la paupière inférieure du macaque une chancrelle en miniature, qui évolue en seize jours en moyenne.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

La recherche du Bacille de Ducrey pourra être utile au diagnostic; elle portera sur la lésion chancreuse elle-même. Le suc ganglionnaire des bubons pourra être l'objet de la même expertise.

Examen direct. — Après avoir enlevé le pus qui recouvre l'ulcère et qui contient de nombreuses souillures microbiennes, on racle à l'aide d'une spatule de platine flambée le fond de la perte de substance. Étaler sur lames le produit recueilli. Laisser sécher, fixer, colorer par la méthode de Gram avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée.

Mise en culture. — L'isolement par les cultures provenant du pus chancreux est difficile, car ce dernier est souillé, comme il a été dit, par des germes étrangers, dont le développement envahit la culture et masque les colonies spécifiques.

Pour éviter ces souillures le plus possible. désinfecter tout d'abord la surface de l'ulcération par un badigeonnage à la teinture d'iode, puis laisser accumuler le pus sous un pansement sec aseptique, et l'ensemencer abondamment sur gélose-sang. Après vingt-quatre à quarante-huit heures de séjour à l'étuve à 37°, les colonies caractéristiques sont perceptibles.

Le suc ganglionnaire est ensemencé directement après prélèvement par ponction aspiratrice à l'aide d'une seringue stérile.

Inoculations. — Faire une scarification à la lancette chargée de pus recouvrant la surface du chancre sur la peau de la cuisse et du bras du malade; on sait que le chancre mou est réinoculable à toute tentative chez le même sujet.

On peut faire la même opération à l'aide d'une culture pure dans le but d'identifier les germes qu'on a préalablement isolés.

Employer encore le procédé des scarifications sur le bord libre de la paupière du macaque (Thibierge, Ravaut et Le Sourd).

Pour le diagnostic, se rappeler que le Bacille de Ducrey et le Tréponème de la syphilis peuvent évoluer sur la même ulcération.

CHAPITRE XLI

VIBRION CHOLÉRIQUE

Le Vibrion cholérique a été découvert par Koch en 1885, dans les matières alvines de sujets atteints de choléra épidémique. Pour lui, ce germe représentait une espèce particulière, différente des autres bactéries. Joint à sa présence constante et exclusive dans les déjections des malades, ce caractère constituait à ses yeux une preuve suffisante de spécificité. Mais, plus tard, à la faveur de multiples recherches, et grâce aux perfectionnements des méthodes bactériologiques, de nombreuses espèces vibrioniennes furent décrites, semblant présenter des rapports assez étroits avec le Vibrion de Koch, mais en différant par certains caractères, importants pour les uns, contingents pour d'autres. La découverte des propriétés biologiques du sérum des animaux vaccinés sembla permettre alors de faire le départ entre ces vibrions étrangers au choléra et ceux dont la spécificité n'était pas douteuse. Néanmoins, aujourd'hui même, les rapports réciproques de ces divers vibrions isolés des selles et des eaux ne sont pas tous encore nettement définis. Quelques points obscurs persistent, que des recherches nouvelles doivent pouvoir éclairer. Cependant, s'il est des vibrions dont la nature cholérique est douteuse, le Vibrion cholérique vrai possède des caractères qui permettent de bien l'identifier et de lui assigner un rôle indéniable dans la pathogénie du choléra.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le Vibrion cholérique se présente sous la forme d'une bactérie, longue de 1 μ,5 à 2 μ,5, large de 0 μ,6, légèrement incurvée, à extrémités fines et figurant assez bien une virgule (d'où son nom de *Bacille virgule*).

L'examen d'une culture à l'état frais montre, outre ces caractères généraux, *une extrême mobilité*. Souvent peu marquée quand la préparation vient d'être effectuée, elle s'accuse dans la suite. Ces Vibrions traversent le champ de la préparation avec une grande

rapidité. Suivant l'expression de Koch, on jugerait assister aux ébats d'un essaim de moucherons. Cette mobilité le différencie à cet égard de vibrions peu ou pas mobiles, étrangers au choléra,

Dans les selles, après coloration. — On écrase sur une lame un grain riziforme, ou bien on étale une gouttelette des matières « soupe au lait » : on constate, outre des cellules épithéliales de l'intestin grêle, des filaments de fibrine et les germes de la flore intestinale, des vibrions présentant la morphologie précédente ; il sont le plus

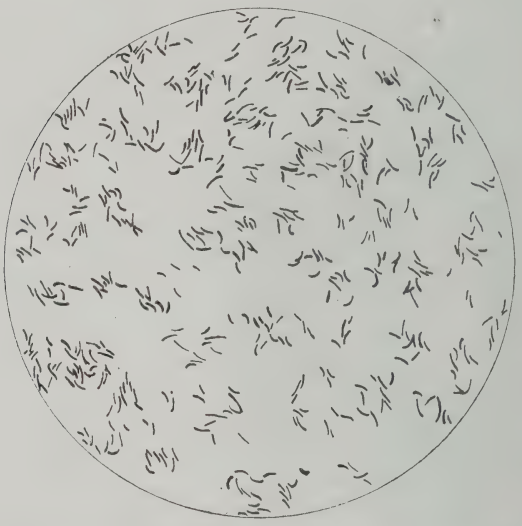


Fig. 222. — Vibrion cholérique. Culture sur gélose âgée de vingt-quatre heures.

souvent incurvés, mais parfois prennent l'aspect de bâtonnets rectilignes, quand le plan de courbure est perpendiculaire à la lame. Ils sont assez fréquemment disposés en files, en bancs de poissons, suivant l'expression de Koch (fig. 234) ; mais cette apparence est loin d'être la règle. Il n'est pas rare de voir plusieurs éléments disposés bout à bout et figurant un S, un Z.

Dans les cultures (fig. 222). — L'aspect microscopique est en général identique et se ramène en somme aux caractères précédents ; quelques variantes doivent cependant être notées.

Dans les cultures de première génération, il n'est pas exceptionnel de voir le Vibrion plus ramassé sur lui-même que dans la forme type ; après un ou deux passages, il reprend un aspect caractéris-

tique; certains Vibrions se présentent même ainsi au début sous un aspect coccobacillaire.

On a décrit encore des formes différentes, notamment une forme filamenteuse, mince, rectiligne ou incurvée, comme celle du Vibrion de Massaouah, isolé des eaux. Chez les cobayes vaccinés, de même à la suite de l'ingestion expérimentale, Metchnikoff a pu transformer des Vibrions filamenteux en Vibrions courts et incurvés; par contre, entre ses mains, le Vibrion d'Angers, dont la forme était

Fig. 223. — Cils vibratiles du Vibrion cholérique.

classique, s'est transformé en un germe mince et long, après un long séjour en eau peptonée.

Enfin, dans les cultures anciennes, on constate des formes d'involution : Vibrions à extrémités renflées, voire même des formes arrondies dans lesquelles Hueppe a vu à tort des arthrospores, dont l'existence est niée actuellement.

Coloration — Le Vibrion cholérique se colore par toutes les couleurs d'aniline, mais faiblement. Le colorant de choix est la fuchsine de Ziehl diluée au quart ou au cinquième. Ce germe se décolore par la méthode de Gram.

Cils vibratiles. — Le Vibrion cholérique est un organisme cilié: suivant les échantillons, les procédés classiques de coloration des

cils n'en révéleraient qu'un, situé à l'une des extrémités, ou bien deux (un à chaque extrémité, ou deux à la même), ou bien davantage encore. Suivant Gaffky, le Vibrion cholérique vrai ne posséderait qu'un cil (fig. 223).

CULTURES.

Le Bacille virgule ne pousse que très maigrement dans les milieux privés d'oxygène; il est presque strictement aérobie. Il donne des cultures abondantes dans tous les milieux usuels et pousse entre 12° et 40° : 37° est sa température optima. Il ne pousse pas dans les milieux légèrement acides et préfère ceux à qui l'on confère une réaction alcaline. Il peut même supporter des doses d'alcali qui empêchent le développement des germes tels que le *B. coli*, le *Proteus vulgaris*, avec lesquels il est mélangé dans les matières fécales. Nous verrons plus loin qu'on tire parti de cette propriété pour pratiquer son isolement.

Bouillon. — En bouillon, il donne rapidement en quelques heures un trouble uniforme avec production d'ondes moirées par agitation du tube. A la surface se développe un mince voile blanchâtre. Après quelques jours, la culture se sédimente.

Eau peptonée. — Dans l'eau peptonée à 3 p. 100, très employée depuis les travaux de Metchnikoff pour l'isolement du Vibrion cholérique, ce germe pousse plus rapidement que les germes de la flore intestinale banale. Même dans les cas où le matériel d'ensemencement ne renferme que de rares Vibrions mêlés à une foule d'autres bactéries, ceux-ci finissent par prédominer et s'amasser à la surface du milieu. En six à sept heures, on observe un trouble léger et un voile identique à celui des cultures en bouillon. Le trouble s'accuse dans la suite, et le voile s'épaissit; le voile est constitué par une quantité énorme de Vibrions qui viennent à la surface rechercher l'oxygène dont ils ont besoin pour vivre et se multiplier.

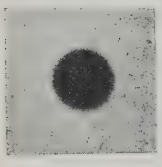


Fig. 224. — Colonie de Vibrion cholérique sur gélatine (premier jour).

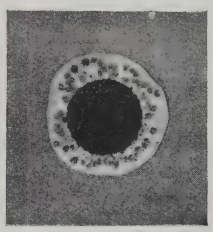


Fig. 225. — Colonie de Vibrion cholérique sur gélatine (soixante-douze heures).

Gélatine. — Milieu essentiel pour l'identification du Vibrion ; ce dernier *liquéfie la gélatine.*

Colonies isolées. — Entre vingt et vingt-quatre heures à 20°, de petites colonies apparaissent blanchâtres et transparentes. La liquéfaction commence vers le deuxième jour (en cupule) (fig. 225) ; la

Fig. 226. — Colonie de Vibrion cholérique (troisième jour),

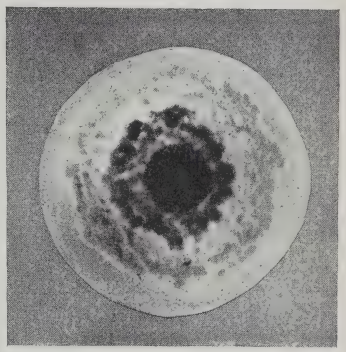


Fig. 227. — Colonie de Vibrion cholérique (cinquième jour).

colonie prend alors l'aspect suivant : centre granuleux entouré d'un cercle granuleux sinueux ; autour de ce cercle, un troisième constitué par la zone de liquéfaction (fig. 226). Celle-ci se poursuit les jours suivants et envahit tout le milieu.

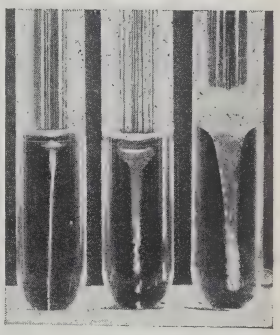


Fig. 228. — Culture de Vibrion cholérique sur gélatine en piqûre aux deuxième, troisième et huitième jours.

Ensemencement en piqûre. — Vers la vingtième heure, de petites colonies blanches se développent le long de la piqûre. Elles sont plus abondantes dans les régions superficielles, où le milieu ne tarde pas à se liquéfier d'une façon caractéristique : il se produit en effet à la surface une *cupule* avec la formation d'une *bulle d'air* ; la liquéfaction se poursuivant, il se développe vers le deuxième jour un *entonnoir* dont la base siège à la surface, où persiste la bulle d'air jusque vers le quatrième jour ; au fond de l'entonnoir, les germes se disposent sous forme de grumeaux blanchâtres. Puis la liquéfaction envahit progressivement, de haut en bas, toujours en entonnoir, la totalité du tube de culture (fig. 228).

Gélose. — *En strie*, à 37°, se forme en seize à dix-huit heures

une glaire, semi-transparente d'abord, plus opaque ensuite, ne présentant aucune caractéristique.

Les colonies isolées jeunes (six à huit heures) sont petites, transparentes, bleutées, homogènes ; plus âgées (vingt-quatre à quarante-huit heures), elles sont plus étendues ; vues à la loupe, leur centre est granuleux et sombre.

Lait. — Le Vibrion cholérique pousse abondamment dans le lait sans le coaguler (R. Koch). Ce caractère ne serait pas constant.

Sérum coagulé. — Le Bacille virgule s'y développe rapidement et le liquéfie, grâce à l'action d'un ferment peptonisant.

Pomme de terre. — Développement abondant, sous forme d'une glaire épaisse de teinte brunâtre.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Résistance aux agents antiseptiques. — La résistance du Vibrion cholérique à l'action des antiseptiques est faible. Le sublimé à 1 p. 10 000, les sels de quinine, le sulfate de cuivre à 1 p. 25 000, les solutions acides arrêtent immédiatement son développement dans les *cultures* : le suc gastrique, par l'acide chlorhydrique qu'il contient, est très vibrionicide.

Vitalité dans les milieux extérieurs. — Dans les cultures conservées à l'obscurité et à l'abri de l'air, le Vibrion cholérique garde sa vitalité pendant trois à quatre mois ; mais il n'en est pas de même quand il subit l'action de l'oxygène, de la lumière et surtout de la dessiccation : la lumière le fait périr en une heure ; sous l'influence de la dessiccation, il succombe en trois jours (Koch, Williams) ; Germano prétend qu'il ne vit pas plus de quatre jours dans les poussières.

Il est très sensible à la chaleur ; une température de 55° pendant une demi-heure le tue sûrement ; il succombe à 60° pendant cinq minutes, instantanément à 100°.

Dans les *déjections*, il est détruit en vingt-quatre heures, d'après Koch, Krause ; en deux à trois jours d'après Kitasato ; Karlinski cependant l'a vu résister pendant quatre à six semaines. Tout semble dépendre des germes qui réalisent la concurrence vitale, comme aussi de la réaction acide ou alcaline des milieux.

Dans le *sol humide* (terre de jardin), Dempster l'a vu résister soixante-trois jours, Germano cent vingt jours dans le pain humide.

Dans l'*eau stérilisée*, d'après Krause, Strauss et du Barry, Nicati et Rietsch, le Vibrion cholérique reste vivant de trente à cent trente-cinq jours ; dans l'eau *non stérilisée*, deux à trois jours (Karlinski,)

sept jours (Dunham), sept à treize jours (Stutzer et Burri), quinze jours (Piccinninni), dans l'eau de mer non stérilisée, vingt-quatre heures (Piccinninni).

Dans l'eau de l'Ourcq, Strauss et du Barry ont constaté une survie de trente jours; dans l'eau de la Vanne, trente-neuf jours.

Ces différences de vitalité dépendent moins de la nature intrinsèque de l'eau envisagée que des germes qu'elle véhicule. On sait en effet l'influence marquée de certains microbes dits « empêchants » ou au contraire « favorisants » sur la vitalité du Vibrion cholérique. Nous aurons l'occasion d'en parler dans l'étude du choléra expérimental par ingestion.

Dans le lait et le beurre, le Vibrion cholérique peut rester vivant jusqu'à cinquante jours (Heim).

Réactions biochimiques. — Réaction de l'indol. — Le Bacille virgule produit de l'indol dans les milieux où on le cultive.

Réaction indol-nitreuse. — En culture dans l'eau peptonée, il réduit les nitrates, donne naissance à des nitrites et engendre de l'indol. La production des nitrites est rendue plus évidente quand on ajoute une petite quantité de nitrate de potasse à l'eau peptonée; pour cette réaction, la peptone de Witte est préférable à toute autre.

On prépare la solution suivante, qu'on répartit en tubes et qu'on stérilise à 115° pendant vingt minutes :

Peptone de Witte	10 grammes.
Nitrate de potasse	1 gramme.
Sel marin	5 grammes.
Eau	1 litre.

On ensemence un tube contenant ce milieu : après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve à 37°, on verse 1 à 2 centimètres cubes d'acide chlorhydrique ou sulfurique pur; on obtient immédiatement une teinte rose qui se fonce au bout de quelques heures. C'est la réaction *indol-nitreuse*, ou du *choléra-roth*, découverte par Poelh en 1886.

Cette réaction n'est pas spécifique : plusieurs vibrions étrangers au Vibrion de Koch peuvent la produire. On a prétendu que certains Vibrions cholériques vrais ne la fournissaient pas; cette affirmation demanderait à être contrôlée avec des Vibrions cholériques bien authentiques, et en culture pure, car les impuretés microbiennes empêchent souvent la réaction de se produire.

Fermentations sucrées. — Le Vibrion cholérique fait fermenter la plupart des sucres : lévulose, maltose, glucose, galactose, saccharose, mannite; les milieux nutrosés tournesolés préparés avec ces

sucres virent au rouge après six heures d'étuve à 37°; un coagulum rose se produit vers la dix-huitième ou vingt-huitième heure. Il reste sans action sur les milieux dulcités et inulinés.

Ces fermentations sucrées ne peuvent servir à différencier le Vibrion de Koch des vibrions cholérimorphes qui présentent le même pouvoir.

Hémolysines. — D'après Kraus et ses élèves, les Vibrions cholériques agglutinables ne produiraient pas d'hémolysine. La propriété hémolytique ne serait réservée qu'à certains vibrions voisins du Bacille virgule, mais n'en possédant pas la spécificité.

En réalité, l'observation a démontré qu'un certain nombre de Vibrions cholériques vrais possédaient, à des degrés divers, des propriétés hémolysantes; mais, suivant la même espèce, elles sont sujettes à des variations.

De plus, d'autres espèces vibrioniennes ne possèdent pas cette propriété (Kutscher, Meinicke, Schumacher).

On ne saurait donc faire de ce phénomène un caractère nettement distinctif des vrais ou des faux vibrions.

La recherche des qualités hémolytiques s'effectue en milieu solide ou liquide.

Milieu solide. — A des tubes d'agar ordinaire liquéfiée, puis refroidie à 40°, on ajoute 0cc,3 à 0cc,5 de sang défibriné de mouton ou de chèvre. Mélanger, couler en plaques; ensemencer avec le vibrion à l'étude.

Après vingt-quatre heures d'étuve, examiner: quand le vibrion est hémolysant, les colonies sont entourées d'une auréole claire qui contraste avec la teinte sombre et opaque du reste du milieu.

S'en tenir au résultat acquis au bout de vingt-quatre heures. Si l'on attend deux, trois et à plus forte raison quatre jours, les résultats sont différents.

Milieu liquide. — Emulsionner dans 4 à 5 centimètres cubes d'eau physiologique une culture sur agar, âgée de dix-huit heures. Verser dans un tube 0cc,1 de cette émulsion dans 0cc,9 d'eau physiologique; ajouter une forte goutte de globules rouges lavés ou une goutte de sang défibriné (sang de lapin, bœuf, mouton ou cobaye).

Abandonner à la température du laboratoire: l'hémolyse se montre au bout de douze à dix-huit heures: elle est parfois plus tardive.

Réactions au sérum anticholérique. — Agglutination. — Un sérum obtenu par la vaccination microbienne ou la vaccination par autolysats du Vibrion cholérique vrai est doué de propriétés agglutinantes manifestes, et à un taux élevé, pour le Vibrion spécifique; il reste sans action sur les vibrions voisins. Tel est le principe. Cette recherche, appliquée à l'identification des vibrions isolés des selles et des eaux, présente une importance considérable.

On a beaucoup discuté sa valeur cependant pour les raisons suivantes : à côté des vibrions nettement agglutinables, il en est qui le sont peu ; d'autres ne s'agglutinent pas à la première génération et ne deviennent agglutinables qu'après plusieurs passages dans les milieux de culture. Ces constatations ne sont pas de nature à infirmer la valeur de cette propriété, car tous les germes, quels qu'ils soient, sont soumis à des variations semblables. Mais où la réaction paraît être en défaut, c'est vis-à-vis de vibrions retirés des selles, et ayant tous les caractères morphologiques, culturaux, etc., du Vibrion cholérique, mais n'agglutinant pas malgré les multiples passages qu'on leur a fait subir. Le tout est de savoir si ces vibrions, si voisins soient-ils du Vibrion de Koch, sont bien des Vibrions cholériques ; on aura plus loin à revenir sur ce fait intéressant.

La recherche se fait par le procédé macroscopique.

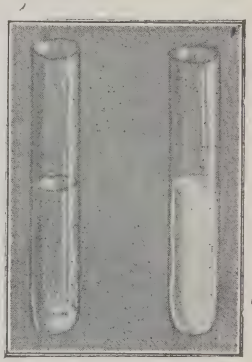


Fig. 229. — Agglutination du Vibrion cholérique. — Tube de gauche : formation des amas. Tube de droite : tube témoin ; trouble homogène.

On verse dans des tubes stériles 1 centimètre cube d'une dilution de sérum à 1 p. 100, 200, etc., 1 p. 1000, 2000, etc., et on ajoute dans chaque tube 1 centimètre cube d'une émulsion d'une culture sur agar de vingt-quatre heures, raclée dans 20 centimètres cubes d'eau physiologique stérile. Après mélange, on met à l'étuve à 37° et on observe les résultats au bout d'une heure. Un simple coup d'œil permet de se rendre compte de l'agglutination (fig. 229) et du taux auquel elle se produit.

L'agglutination du vibrion peut se produire parfois, mais à des taux minimes (1/20) avec le sérum des sujets atteints de choléra (Achard et Bensaude).

Fixation du complément. — Le sérum anticholérique possède une sensibilisatrice spécifique pour le Vibrion cholérique ; la méthode connue de Bordet-Gengou permet de s'en assurer d'une façon précise. La fixation du complément ne s'obtiendrait pas avec les germes qui lui sont étrangers (Betsche et Kohn). D'après les recherches de Crendiropoulo, parmi les vibrions qui ne réagissent ni à l'agglutination, ni au phénomène de Pfeiffer, il en est d'assez nombreux qui cependant fixent le complément ; peut-être les sensibilisatrices mises en jeu ne sont-elles que des sensibilisatrices de groupe, non spécifiques.

Phénomène de Pfeiffer. — La description en a été donnée par Pfeiffer et Israëlf ; il a été surtout étudié par Metchnikoff et Bordet. Il peut être mis en évidence de deux façons : *in vivo* (Pfeiffer) et *in vitro* (Bordet).

In vivo. — A un cobaye vacciné fortement contre le Vibrion cholérique, on injecte dans le péritoine une demi-culture du Vibrion de Koch, émulsionnée dans 2 centimètres cubes d'eau physiologique stérile. Après dix ou vingt ou soixante minutes au plus, on prélève l'exsudat péritonéal

Fig. 230. — Phénomène de Pfeiffer positif : agglutination et transformation du Vibrion cholérique en granules.

à l'aide d'une pipette capillaire. On l'examine en goutte pendante ou sur lame après coloration. Alors que chez les animaux témoins, non immunisés, les vibrions se montrent en foule, avec leur aspect classique et leur mobilité, chez le cobaye vacciné, les vibrions présentent des modifications importantes : tout d'abord ils perdent leur mobilité, s'agglutinent et bientôt on observe leur transformation en *granules sphériques* (fig. 230), bien colorés d'abord, mais perdant peu à peu leur colorabilité, puis se dissolvant complètement. Des vibrions non cholériques conservent leur apparence normale, et la transformation en granules ne se produit pas (fig. 231).

On peut encore réaliser la même expérience avec les mêmes résultats en opérant chez des cobayes neufs : on leur injecte alors la même quantité de culture, additionnée d'une petite quantité d'un sérum anticholé-

rique actif (1/4 ou 1/10 de centimètre cube). L'exsudat prélevé montre la même transformation en granules.

Aux yeux de Pfeiffer, cette réaction présenterait une grande importance pour l'identification d'un vibrion.

In vitro. — Metchnikoff et Bordet ont réalisé le phénomène de Pfeiffer *in vitro*, en mélangeant dans des tubes stériles une dilution de sérum anticholérique, quelques gouttes de sérum frais de cobaye (alexine) et

Fig. 231. — Expérience témoin chez un cobaye neuf : vibrions mobiles, pas de modifications de forme ni d'agglutination. Réaction négative.

l'émulsion microbienne. Après un séjour de deux à trois heures à l'étuve à 37°, on examine en gouttes pendantes et sur lames après coloration : l'agglutination et la transformation en granules s'observent comme dans l'exsudat péritonéal de cobaye.

La réaction de Pfeiffer peut s'obtenir avec le sérum des sujets convalescents de choléra.

SIÈGE DU VIBRION CHOLÉRIQUE DANS L'ORGANISME.

Chez les malades. — Le Vibrion cholérique pullule avec abondance dans l'intestin grêle. On le décèle aisément dans son contenu, où il se voit plus particulièrement dans les *flocons*, les *grains*

riziformes; dans les coupes de la paroi intestinale, il est perceptible au niveau des glandes de Lieberkhün et dans le tissu interstitiel interglandulaire (fig. 232); il se rencontre encore dans les matières alvines qui sont évacuée par le gros intestin. Là, il se trouve en plus ou moins grande abondance suivant la période de l'infection cholérique : au début, il se trouve le plus souvent en culture presque pure; puis au fur et à mesure que l'infection décline, les microbes de la flore intestinale normale reprennent le

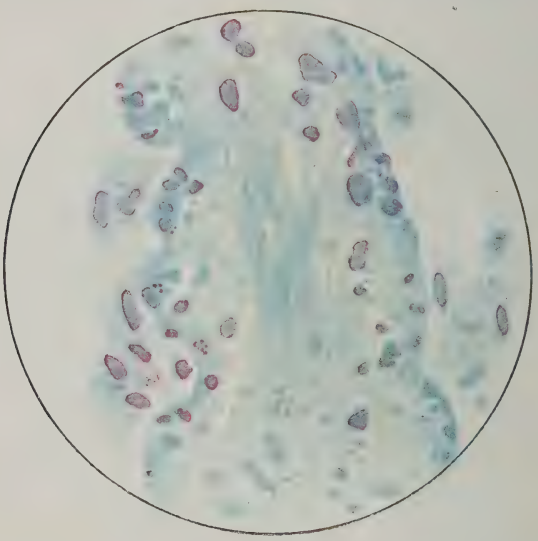


Fig. 232. — Vibrion cholérique dans une coupe de villosité intestinale.

dessus, et il est associé à de nombreuses bactéries. Sa présence dans les selles constitue un grand danger pour la contagion. Koch a constaté deux fois le Bacille virgule dans les *vomissements*.

Le Vibrion cholérique se cantonne dans l'intestin et ne se généralise pas. Telle est la règle générale. Elle semble comporter quelques exceptions : Deycke l'aurait décelé dans les parois de l'estomac; Girode, Mills dans le foie; Nicati et Rietsch, Girode, Lesage, Gaffky, Kulescha, Defressine et Cazeneuve, dans les voies biliaires.

Le Vibrion cholérique se rencontre dans toutes les formes de choléra avéré, dans les atteintes foudroyantes comme dans les atteintes bénignes. Sa présence a été constatée dans un certain

nombre de cas de *diarrhée* d'apparence banale, qui précèdent les grosses explosions épidémiques et ne sont, en réalité, que des cas atténués de choléra; il en est de même dans les atteintes semblables qui, en plein foyer épidémique, s'observent à côté des cas les plus foudroyants.

Chez les sujets sains. — Une notion de la plus haute importance au point de vue épidémiologique est venue se greffer sur cette dernière : comme le Bacille typhique, le Méningocoque, etc., le Vibrion cholérique peut se rencontrer chez des sujets sains qui ont été en contact direct ou indirect avec des cholériques avérés. Il s'agit, ici encore, de *porteurs de germes*, dont le pouvoir contagionnant est d'autant plus à redouter qu'ils ne présentent aucun symptôme intestinal et passent ainsi inaperçus.

Persistance du Vibrion cholérique chez les convalescents et les porteurs. — Depuis que la technique de la recherche du Bacille virgule s'est perfectionnée, on possède des renseignements assez précis sur sa persistance dans l'intestin des sujets qui l'hébergent.

Malades. — La durée de l'excrétion du germe spécifique a été étudiée par de nombreux auteurs. Sur 30 cas, Gaffky a noté les chiffres suivants :

Moins de 5 jours	17 cas.
De 5 à 10 jours	7 —
De 10 à 20 jours	5 —
35 jours	1 —

Porteurs sains. — Durant l'épidémie de Saint-Pétersbourg (1908), quarante-sept porteurs sains ont été examinés systématiquement : quelques-uns ont gardé le germe un à deux jours; la plupart, quatre à cinq jours; dix une semaine; deux l'ont gardé dix jours.

POUVOIR PATHOGÈNE SPÉCIFIQUE CHEZ L'HOMME.

La spécificité du Vibrion cholérique dans l'étiologie du choléra épidémique est incontestable. Elle est prouvée non seulement par les propriétés connues (agglutination, phénomène de Pfeiffer) que possède le sérum des malades, mais aussi par les expériences tentées par plusieurs observateurs.

Pettenkoffer et Emmerich essayèrent de réaliser le choléra expérimental humain, en ingérant des cultures pures de Vibrions cholériques après neutralisation du suc gastrique par absorption de bicarbonate de soude. Ils ne réussirent qu'à provoquer une diarrhée cholériforme; il en fut de même dans les essais de Ferran. Les expériences ne furent réellement positives qu'entre les mains de Metchnikoff et de ses élèves. Après avoir absorbé 1 gramme de

bicarbonate de soude, ils ingérèrent des cultures de Vibrions cholériques sur gélose. Des diarrhées d'aspect riziforme se déclarèrent ainsi et l'un des expérimentateurs contracta un véritable choléra avec les symptômes classiques au grand complet. Enfin on connaît plusieurs exemples de bactériologistes qui furent atteints de choléra, en dehors de toute période épidémique, après s'être infectés accidentellement en maniant des cultures de Bacille virgule.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

L'animal réagit d'une façon différente suivant la voie d'introduction du virus.

L'*injection sous-cutanée* provoque chez le *cobaye*, le *lapin* et surtout le *spermophile* une *septicémie vibrionienne* à laquelle ils ne tardent pas à succomber après avoir présenté de l'hypothermie, des convulsions et du collapsus. A l'autopsie, on retrouve le Vibrion dans le sang et les viscères.

On obtient les mêmes résultats, mais plus facilement encore, en pratiquant les inoculations dans les *masses musculaires*. Gamaléia, puis Metchnikoff les ont utilisées pour vaincre la résistance des *pigeons*. Par la voie sous-cutanée, en effet, le pigeon paraît réfractaire à l'infection cholérique. Pour certains mêmes, le fait qu'un Vibrion n'était pas pathogène pour un animal constituait un caractère important en faveur de la nature cholérique du Vibrion employé. Les résultats obtenus par les auteurs précédents avec les injections intramusculaires écartent ce moyen de diagnostic.

Signalons ici que la virulence des Vibrions est très variable : certains d'entre eux, provenant même de selles cholériques, restent inoffensifs pour l'animal. Aussi la virulence est-elle considérée comme un caractère trop contingent pour l'identification du Vibrion spécifique ; d'autant que certains Vibrions sûrement non cholériques sont plus virulents que le Vibrion de Koch.

L'*injection intrapéritonéale* chez le cobaye provoque rapidement une péritonite vibrionienne mortelle (Hueppe et Pfeiffer). Quelques heures après l'inoculation, le poil de l'animal se hérisse, la température fléchit, des convulsions se produisent, puis le collapsus survient, et l'animal succombe.

A l'autopsie, on constate que la cavité péritonéale renferme un exsudat louche ou purulent, contenant des Vibrions cholériques ; l'intestin présente une teinte hortensia ; enfin, dans son contenu, des vibrions sont perceptibles ; ils se généralisent parfois en déterminant une septicémie.

Dans cette épreuve, les Vibrions cholériques manifestent encore une virulence très variable suivant les échantillons utilisés. Pour être mortelle, la dose employée doit varier avec chacun d'eux.

Quoi qu'il en soit, sous l'influence de ces inoculations diverses, l'animal contracte l'infection cholérique, mais les symptômes observés ne présentent aucune analogie avec le choléra intestinal tel qu'il se présente chez l'homme. Seules les expériences tentées par la voie digestive ont pu atteindre ce but.

Inoculation par les voies digestives. — Choléra expérimental. — Nicati et Rietsch paraissent avoir été les premiers à provoquer un véritable choléra intestinal chez le cobaye, en injectant, après laparotomie, des cultures de vibrions de Koch dans l'intestin grêle. Depuis lors, des essais ont été tentés par Koch, puis Metchnikoff, en utilisant une technique différente.

Expériences de Koch sur le cobaye. — Koch introduit tout d'abord dans l'estomac du cobaye, par une sonde, une solution de bicarbonate de soude à 5 p. 100, puis une culture de Vibrions cholériques. Immédiatement après, pour immobiliser l'intestin, il injecte dans le péritoine 1 centimètre cube de teinture d'opium.

Au bout de dix à vingt heures, l'animal perd l'appétit et présente de la faiblesse du train postérieur; la respiration se ralentit, puis le collapsus s'établit, la température baisse et il succombe. A l'autopsie, l'intestin grêle est fortement tuméfié, et son contenu est constitué par un liquide aqueux, incolore, floconneux, où des Vibrions cholériques pullulent en abondance.

Expériences de Metchnikoff sur les jeunes lapins. — Metchnikoff, pensant que la difficulté de réaliser le choléra intestinal provenait de l'influence nocive exercée par certains germes de l'intestin, s'adressa au jeune lapin d'un à quatre jours, encore à la mamelle, sans employer les artifices imaginés par Koch. Pour lui, le lapin de cet âge devait se prêter mieux que tout autre à l'expérience, car il se nourrit exclusivement à cette époque du lait de sa mère, et sa flore intestinale est pauvre en bactéries.

Il infecte les animaux en leur faisant ingérer une culture d'agar raclée. Dans ces conditions, 50 p. 100 des animaux en expérience présentent de la diarrhée avec hypothermie et collapsus terminal. L'intestin grêle est le siège de lésions identiques à celles du choléra humain; le liquide qu'il contient fourmille de Vibrions cholériques.

Les résultats positifs sont beaucoup plus nombreux et plus nets (20 sur 22), quand, à la culture du Vibrion cholérique, on ajoute des *microbes favorisants* (torula, sarcine, un bacille coliforme).

L'importance de ces derniers faits expérimentaux est à souligner

particulièrement, car ils sont de nature à expliquer certaines obscurités régnant sur l'étiologie du choléra. Tous les épidémiologistes ont remarqué en effet que, dans un groupe de sujets exposés au même foyer de contagion cholérique, certains contractaient le choléra, d'autres restaient indemnes ou restaient simplement porteurs sains. Il est fort vraisemblable, d'après les données de Metchnikoff, que, chez les premiers, l'éclosion des symptômes cholériques s'est effectuée grâce à la présence de microbes intestinaux qui ont favorisé la pullulation et la virulence du germe spécifique; chez les autres, ou bien ces germes favorisants n'existaient pas, ou bien le vibrion a éprouvé, au contraire, l'action néfaste de germes dont la nature « empêchante » a été démontrée par Metchnikoff sur les cultures en plaques.

Expériences de Zabolotny sur les spermophiles. — Sur les spermophiles, très réceptifs, Zabolotny a réalisé des expériences d'ingestion qui se rapprochent davantage des conditions de l'infection humaine. Il leur fait ingérer des aliments arrosés de cultures de Vibrion de Koch. 50 p. 100 des animaux succombent en présentant les symptômes du choléra, diarrhée, hypothermie, crampes, cyanose du nez et de la langue; l'autopsie montre les lésions typiques du choléra humain.

La proportion des atteintes et de la mortalité est plus élevée si, à la nourriture spécifiquement contaminée, on ajoute une petite quantité d'un sel alcalin.

Expériences sur les singes. — Pottevin et Violle ont pu reproduire chez le singe le choléra expérimental avec les symptômes et les lésions du choléra humain.

Ces auteurs ont commencé par faire absorber à ces animaux 7 à 8 grammes de sulfate de soude pour mettre leur intestin en état de moindre résistance; dès que la diarrhée apparaît, ils leur donnent à ingérer des cultures de Vibrion cholérique sur agar, âgées de vingt-quatre heures: tubes de culture émulsionnée dans 20 centimètres cubes d'eau; quand la dose de culture ingérée atteint le contenu d'une boîte de Petri de 9 centimètres de diamètre, les animaux meurent en dix-huit à quarante-huit heures; s'ils n'absorbent que 1/5 ou 1/10 de boîte, la mort survient en trois à quatre jours.

Ils présentent tout d'abord de la diarrhée jaunâtre, puis des selles aqueuses, blanchâtres, contenant des grains riziformes comme dans le choléra humain; le Vibrion cholérique y est abondant.

L'autopsie montre les mêmes lésions que chez l'homme.

Cantacuzène et A. Marie l'ont également reproduit chez des cobayes auxquels ils donnèrent à ingérer préalablement de la podophylle pour provoquer une irritation intestinale. Des cobayes neufs

ayant ingéré des matières provenant de ces cobayes ainsi infectés, contractèrent également le choléra expérimental.

TOXINE CHOLÉRIQUE.

Dès 1883, Koch attribuait le choléra à un empoisonnement aigu, dû à l'absorption d'une substance toxique élaborée dans l'intestin par le Vibrion cholérique. De nombreux travaux ont, depuis lors, été consacrés à la mise en évidence et à l'étude de la toxine cholérique.

Petri prépara une toxine soluble qui résistait à la température de 100°. Il l'obtenait par filtration de cultures de Vibrions en solutions peptonées à 10 p. 100. Le filtrat tuait le cobaye en injection péritonéale à la dose de 2 centimètres cubes, en provoquant tous les phénomènes connus de l'intoxication cholérique. Il assimilait cette toxine à une toxo-peptone.

En 1892, Gamaleia cultive le Vibrion cholérique en bouillon de pied de veau : après un séjour de deux semaines à l'étuve à 37°, il abandonne les cultures à la température du laboratoire pour laisser macérer les corps microbiens et permettre aux poisons qu'ils contiennent de diffuser dans le liquide. Dans ce liquide de macération, il trouve deux poisons : l'un thermolabile qui provoque de la diarrhée au lapin, l'autre thermostabile, pouvant tuer le lapin sans qu'il présente de diarrhée,

Pour Pfeiffer et ses élèves, la toxine cholérique est un poison contenu dans le corps des microbes, *endotoxine* qui ne serait mise en liberté qu'après la mort et la destruction des vibrions.

Préparation de la toxine. — Pour préparer une toxine active, il faut avoir recours soit au procédé de Metchnikoff, Roux et Salimbeni, soit à celui de Brau et Denier.

Procédé de Metchnikoff, Roux et Salimbeni. — Les auteurs choisirent tout d'abord un vibrion provenant directement de selles cholériques et n'ayant jamais subi de passage sur les animaux. (Ils ont abandonné la méthode de l'exaltation de la virulence par la méthode des sacs de collodion, ce procédé accroissant la virulence, mais diminuant la toxicité).

Ils emploient comme milieu de culture la solution de peptone à 2 p. 100, additionnée de 2 p. 100 de gélatine, de 1 p. 100 de sel marin.

On chauffe à 100° pour fondre la gélatine ; alcaliniser à raison de 12 centimètres cubes de solution normale de soude par litre, après neutralisation. On autoclave à 115° pendant vingt minutes ; filtrer sur papier ; stériliser à 110-112°.

Après refroidissement, on ajoute 25 p. 100 de sérum de cheval normal, puis on répartit dans des boites de Roux stériles, à raison de 50 centimètres cubes par boite. Un nouveau chauffage à 60° pendant trois

heures assure la destruction des substances bactéricides du sérum de cheval.

Pour avoir une toxine active, « il faut réaliser des cultures rapides, très abondantes, et en retirer la toxine avant que celle-ci ne soit modifiée. Il faut que le milieu soit ensemencé largement avec des microbes jeunes et en pleine activité, et que la culture se fasse en couche mince et en large surface pour faciliter l'aération» (Salimbeni.)

On ensemence chaque boîte, préparée comme il a été dit, avec le quart de l'émulsion d'une culture ; mettre à l'étuve à 37°, en couchant les boîtes à plat pour augmenter la surface ; pour augmenter l'aération, on agite chaque jour.

L'expérience montre que la toxicité atteint son maximum au septième jour. On filtre alors les cultures obtenues sur papier d'abord, puis sur bougie Chamberland ou Berkefeld.

Procédé de Brau et Denier. — Il permet d'obtenir une toxine à effets plus constants : à 45 centimètres cubes de bouillon Martin gélatiné, on ajoute 45 centimètres cubes de sérum de cheval et 10 centimètres cubes de sang de cheval défibriné, ayant séjourné à la glacière pendant trois semaines après la saignée. La suite de la technique est la même que dans le procédé précédent.

Propriétés de la toxine cholérique. — La toxine cholérique n'est aucunement modifiée par la température de l'ébullition prolongée pendant vingt minutes. A 60° pendant vingt-quatre heures, elle est au contraire très affaiblie. L'air et la lumière l'altèrent rapidement. A la glacière et en tubes scellés, elle garde longtemps son activité.

Elle dialyse à travers les membranes de collodion : comme les autres toxines, elle est précipitable par l'alcool absolu et le sulfate d'ammoniaque.

Son action sur les animaux. — Un centimètre cube de toxine, injecté sous la peau ou dans le péritoine d'un cobaye de 200 à 300 grammes, le tue en seize à dix-huit heures. C'est la dose minima mortelle d'une toxine de moyenne activité.

Aussitôt après l'inoculation, d'après Salimbeni, le cobaye est triste, son poil se hérisse; la respiration devient courte, les extrémités se refroidissent, les muqueuses se cyanosent, et il succombe en hyperthermie. L'autopsie montre un léger œdème gélatineux au point d'inoculation ; l'intestin grêle est hyperémié, distendu par un liquide diarrhéique; les viscères sont congestionnés, particulièrement les capsules surrénales.

Le lapin est moins sensible que le cobaye ; seule l'injection intraveineuse permet d'observer les lésions décrites précédemment; elles sont identiques à celles que présente le cobaye.

CARACTÈRES DISTINCTIFS DES RACES VIBRIONIENNES VOISINES.

Avant de fixer la règle à suivre pour l'identification du Vibrion cholérique destinée au diagnostic bactériologique du choléra, il nous faut passer rapidement en revue les caractères principaux des vibrions certainement étrangers au Vibrion de Koch.

Vibrion de Finkler-Prior. — Ce vibrion a été isolé par Finkler et Prior des selles d'un malade atteint d'entérite aiguë, et retrouvé dans les matières de sujets présentant un syndrome cholériforme.

Les cultures sont semblables à celles du Vibrion cholérique vrai; ses extrémités seraient un peu plus effilées; mobile, il ne possède qu'un cil.

Les cultures sont semblables à celles du Vibrion de Koch; la culture en gélatine est cependant plus abondante, la liquéfaction plus rapide, et il ne forme pas de bulle d'air à la surface (fig. 233). Il coagule le lait

La réaction indol-nitreuse est peu intense; elle se produit lentement.

Chez le cobaye, inoculé dans le péritoine, il donne une péritonite mortelle. Injecté dans le muscle pectoral du pigeon, il le fait succomber rapidement. Chez l'homme, il provoque, par ingestion, de la diarrhée légère.

Vibrion de Deneke. — Isolé d'un vieux fromage par Deneke, ce vibrion présente une morphologie analogue à celle du Vibrion cholérique vrai, il liquéfie la gélatine dans les mêmes conditions que lui (fig. 233).

La réaction indol-nitreuse est peu marquée; enfin il tue le cobaye par injection intrapéritonéale et le pigeon par injection intramusculaire. Donné en ingestion à l'homme, il provoque de la diarrhée.

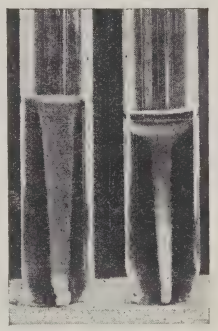


Fig. 233. — A gauche : Vibrion de Deneke ; à droite : Vibrion de Finkler-Prior (culture en gélatine).

Vibrio Metchnikovi. — Ce vibrion, découvert par Gamaleia, est l'agent pathogène d'une infection qui sévit chez les poules à Odessa. Il détermine chez ces animaux de l'abattement et de la diarrhée L'autopsie montre un intestin hyperémié, contenant un liquide jaunâtre, riche en vibrions.

Au point de vue morphologique, il ne se différencie du Vibrion de Koch que par son aptitude à former des spires de quatre à cinq tours; mobile, il ne possède qu'un cil vibratile. Par ses caractères de culture, il se rapproche étroitement du Bacille virgule; le lait se coagule en une semaine environ. La réaction indol-nitreuse est très nette.

Chez les jeunes poulets, l'injection sous-cutanée, péritonéale, l'ingestion amènent la mort. Chez le pigeon, l'ingestion reste inefficace, alors que les autres inoculations sont mortelles. L'homme n'éprouve aucun dommage à la suite de l'ingestion de ses cultures.

VIBRIONS CHOLÉRIQUES ATYPIQUES OU CHOLÉRIMORPHES.

A côté du Vibrion cholérique vrai, répondant à la description classique, il est une place à réserver à toute une série de vibrions morphologiquement semblables au Vibrion de Koch, mais en différant par leurs propriétés biologiques et semblant ainsi s'en écarter. On les a nommés « simili-cholériques » ou « paracholériques » sans que cette dernière expression ait la moindre analogie de signification avec les paratyphiques opposés au Bacille d'Eberth.

On les rencontre soit dans les milieux extérieurs, l'eau notamment, soit dans les déjections de certains malades, et par conséquent dans l'intestin, où ils peuvent être décelés soit seuls, soit à côté du Vibrion cholérique vrai.

Quand on les étudie en effet au point de vue de l'agglutination, du phénomène de Pfeiffer, de la réaction de fixation et de l'hémolyse, ils s'écartent sensiblement du vibrion classique.

D'une façon générale, bien que les variantes puissent être assez nombreuses, on peut, semble-t-il, les ranger en trois groupes :

1er groupe : Agglutination et phénomène de Pfeiffer positifs ; réaction de fixation négative ; hémolyse positive.

2e groupe : Agglutination et Pfeiffer négatifs ; fixation et hémolyse positives.

3e groupe : Agglutination, Pfeiffer et fixation négatifs ; hémolyse positive.

Et chez tous, la virulence est variable d'un échantillon à l'autre.

Quelle est la signification étiologique de ces germes?

Deux opinions contraires :

1° Certains auteurs estiment tout d'abord qu'ils ne sauraient être différenciés du Vibrion cholérique classique.

Les propriétés biologiques qui semblent les séparer n'ont, disent-ils, aucun caractère de fixité ; l'agglutinabilité est une propriété qui peut se modifier suivant les circonstances et les conditions de milieu où ils sont appelés à vivre. Crendiropoulo a pu constater sur le même cadavre la présence de vibrions agglutinants exclusivement dans une partie de l'intestin, tandis que l'autre ne renfermait que des non agglutinants. Chez le même sujet, à quelques jours d'intervalle ou en même temps, il a pu déceler des vibrions hémolysants et non hémolysants, donnant la réaction indol-nitreuse et ne la donnant pas, déviant et ne déviant pas le complément.

La perte de l'agglutinabilité est, dans les exemples cités plus hauts, vraisemblablement causée par des réactions inconnues, en rapport avec tel ou tel segment de l'intestin.

Elle peut d'ailleurs être provoquée quand on place le vibrion dans des conditions d'existence différentes. Ainsi, Puntoni a pu transformer en vibrions non agglutinables des vibrions agglutinables, uniquement par un séjour plus ou moins prolongé dans l'eau.

Cette influence n'est d'ailleurs pas égale sur tous les échantillons d'un seul et même germe puisqu'il a vu se transformer ainsi une partie seulement des colonies d'une même souche.

D'autre part, cette agglutinabilité perdue peut être récupérée soit en cultivant des vibrions atypiques en symbiose avec une sarcine jaune (Harowitz), soit à la suite de divers passages : il est vrai qu'avec d'autres souches, la restitution de cette propriété ne peut être réalisée.

Ces faits engagent donc ces auteurs à considérer les vibrions non agglutinables comme des Vibrions cholériques vrais, mais en voie de dégénérescence plus ou moins complète, et passés à l'état de saprophytes; pour eux, les propriétés biologiques qui les caractérisent sont instables ; elles peuvent disparaître sans nuire à l'identité du microbe.

2° En regard de cette conception, une autre semble rallier un certain nombre de partisans.

Pour ces derniers, les auteurs qui précèdent font bon marché de la spécificité habituelle de ces réactions biologiques, auxquelles on a tendance à accorder en général une certaine fixité.

Il n'est pas douteux en effet qu'un sérum préparé avec un vibrion non agglutinable par le sérum anticholérique, agglutinera ce vibrion, et sera dénué d'agglutinines vis-à-vis du Vibrion cholérique. Il en est de même du phénomène de Pfeiffer qui suit toujours étroitement les phénomènes d'agglutination.

Quant à la réaction de fixation, rien ne prouve encore que la fixation du complément observée avec ces vibrions dits atypiques ne traduise pas, en ce cas, l'existence, dans un antisérum, de sensibilisatrices non spécifiques, autrement dit de sensibilisatrices de groupe ou co-sensibilisatrices.

L'hémolyse, on l'a vu, est un phénomène trop variable, puisqu'elle existe parfois avec des vibrions cholériques authentiques, pour qu'on puisse en faire état.

Il est à remarquer, d'autre part, que nombre de ces vibrions non agglutinables sont doués de virulence ; ils sont même parfois plus virulents, à dose égale, que des Vibrions cholériques authentiques. Cette constatation s'accorde mal avec l'idée de vibrions passés à l'état de saprophytes, comme le prétendent les partisans de l'unicité.

D'ailleurs, rappelons que les vibrions d'El Tor ont été isolés par

Ruffer, chez des sujets indemnes du choléra, à Alexandrie, où cette infection ne sévissait en aucune façon.

Enfin, comme dans le cas des vibrions isolés par Defressine et Cazeneuve des moules des parcs de Brégaillon, le sérum anticholérique ne protège pas contre l'action pathogène de ces germes, alors que le sérum obtenu avec ces derniers protégeait le cobaye contre leur pouvoir pathogène.

Aussi les partisans de la séparation à établir avec le Vibrion cholérique estiment-ils qu'il y a lieu de faire une distinction nette entre ce dernier et les vibrions « simili-cholériques ». Pour eux, ces derniers sont capables de déterminer des troubles intestinaux analogues à ceux du choléra, de provoquer des entérites cholériformes, mortelles mêmes, mais qui sont étrangères au choléra indien épidémique.

Castellani, qui désigne ces entérites non spécifiques sous le nom de « paracholéra », décrit à part, parmi les plus connus:

1° Le vibrion de *Finkler-Prior*, qui a été isolé de diarrhées signalées comme symptomatiques de choléra nostras.

2° Le vibrion de *Massaouah*, isolé par Pasquale en 1895. Ce germe est d'ailleurs pourvu de deux cils terminaux au lieu d'un.

Dans ce groupe peuvent être rangés des vibrions isolés de certaines eaux en dehors de toute période cholérique.

3° Les vibrions d'*El Tor* qui sont agglutinés, par le sérum anticholérique, subissent le phénomène de Pfeiffer, sont hémolysants, mais ne fixent pas le complément.

4° Le vibrion *Kegallensis* que Castellani a isolé à Ceylan en 1913 de cas cliniquement semblables au choléra (agglutination nulle avec le sérum anticholérique ; le sérum anti-kegallensis n'agglutine pas le Vibrion cholérique).

Telles sont les deux opinions en présence, sans qu'il soit possible actuellement de les départager. Il se peut d'ailleurs que chacune d'elles comporte une part de vérité; rien n'empêcherait d'admettre l'existence de vibrions spécifiquement différents du Vibrion cholérique comme aussi de Vibrions cholériques modifiés suivant des conditions de temps et de milieu ; mais le problème n'est pas encore résolu.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DU CHOLÉRA.

Le diagnostic bactériologique du choléra comporte plusieurs épreuves, dont la première est la mise en évidence et l'isolement du vibrion, et la seconde l'identification de ce vibrion.

Recherche. — 1° ***Examen microscopique.*** — On prélève un grain riziforme, ou à son défaut une gouttelette de la selle recueillie; on l'étale sur une lame, et, après fixation, on colore par la méthode de Gram et suraddition de fuchsine diluée à 1 dixième. L'examen microscopique montre, à côté de germes colorés ou non par le Gram, des bactéries incurvées, teintées en rose pâle par la fuchsine (fig. 234) ayant les caractères décrits plus haut. Dans les cas typiques et récents, ces vibrions peuvent être en culture pure. En d'autres cir-

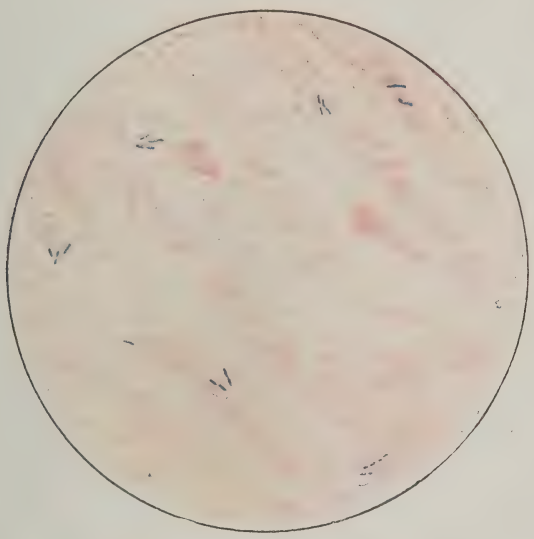


Fig. 234. — Frottis de selles cholériques (grains riziformes) coloré par le Gram composé. Vibrions décolorés par le Gram et germes de la flore intestinale ayant pris le Gram.

constances, ils sont rares et accompagnés d'une foule d'éléments microbiens appartenant à la flore intestinale normale.

En réalité, cet examen ne donne que des renseignements insuffisants. Il permet de constater l'existence d'une forme vibrionienne, mais sans donner d'indications sur sa véritable nature. Cet examen direct n'a d'autre importance que d'orienter l'observateur. Dans tous les cas, il y a lieu de recourir aux cultures et aux épreuves biologiques destinées à la spécification du germe suspect.

2° ***Enrichissement.*** — L'enrichissement a pour but de rendre plus abondants les vibrions et de faciliter grandement leur isolement ultérieur. On emploie dans ce but des milieux peu nutritifs et

alcalins, favorisant le développement des vibrions, empêchant dans une certaine mesure celui des autres germes de la flore intestinale banale.

Le milieu le plus employé et le plus simple est l'*eau peptonée* à 1 p. 100, additionnée de 0,5 p. 100 de sel marin et légèrement alcalinisée.

La commission allemande de 1907, instituée pour l'étude bactériologique du choléra, a proposé une modification à ce milieu.

Peptone de Witte	20 grammes.
Sel marin	20 —
Nitrate de potasse	0gr,1
Carbonate de soude	0gr,2
Eau distillée	1 000 grammes.

Dans l'un de ces milieux répartis en tubes stériles, on ensemence 1 centimètre cube de déjections liquides. Si elles sont solides (convalescents et porteurs de germes), on en ensemence un volume équivalent, en ayant soin de les diluer et de les émulsionner pour mettre plus sûrement en liberté les Vibrions cholériques qui peuvent y être contenus.

En certains cas où le Vibrion est peu abondant, Gaffky conseille d'ensemencer 5 centimètres cubes de déjections.

Après six heures de séjour à l'étuve à 37°, un trouble s'est produit dans le milieu et, à la surface du liquide, un léger voile contenant en grande partie du Vibrion cholérique, mais aussi, en minime quantité, quelques germes associés.

Pour purifier cette culture, réensemencer une parcelle du voile dans un deuxième tube et, après six nouvelles heures, le voile qui s'est développé contient presque exclusivement du Vibrion cholérique. On peut alors, sur ce matériel « enrichi », faire les épreuves d'isolement qui seront décrites plus loin.

On opère d'une façon identique avec le milieu préconisé par Metchnikoff : la solution *pepto-gélo-sel* :

Peptone sèche	1 gramme.
Sel marin	0gr,5
Gélatine	2 grammes.
Eau distillée	100 cent. cubes.

Alcaliniser légèrement à la soude.

Ottolenghi emploie comme milieu d'enrichissement la *bile de bœuf*, qui présenterait sur l'eau peptonée cet avantage que les autres germes de la flore intestinale ne se développent pas ou presque pas dans ce milieu. L'isolement du Vibrion n'en est que plus facilité.

Filtrer sur papier de la bile de bœuf fraîche ; ajouter au filtrat 3 p. 100 d'une solution à 1 p. 10 de carbonate de soude cristallisé, et 0,1 p. 100 de nitrate de potasse. Répartir en tubes et stériliser à l'autoclave pendant quinze minutes.

Kraus a récemment proposé de substituer à l'eau peptonée du bouillon additionné de sang alcalinisé (3 centimètres cubes de sang alcalinisé et 6 à 7 centimètres cubes de bouillon neutre). Ce milieu, qui ne doit pas être bouilli, permettrait au Vibrion de cultiver et empêcherait le développement de tous les autres germes.

3° ***Isolement.*** — Quel que soit le milieu d'enrichissement employé, il reste à isoler le vibrion qui s'y est développé. On utilise pour cela la méthode connue de l'isolement sur les milieux solides.

Gélose ordinaire. Sur de la gélose coulée en boîte de Petri, ensemencer en stries une anse de platine, chargée d'une parcelle du voile qui s'est formé sur les milieux précédents. Mettre à l'étuve à 37°. Au bout de six à huit heures, on voit se développer, si la gélose est fraîche, le long des stries et sur ses bords, de fines colonies transparentes qui partent sous forme de rayons. C'est le plus souvent du Vibrion cholérique qui, grâce à sa mobilité et à l'humidité du milieu, a fusé depuis la strie d'ensemencement. Si l'examen microscopique montre qu'il s'agit d'un vibrion, repiquer la colonie suspecte sur les milieux ordinaires pour avoir à l'état de pureté une nouvelle culture qui servira aux épreuves d'identification.

Ce procédé, s'il convient dans nombre de cas, ne permet pas d'isoler à coup sûr le Vibrion cholérique, car, malgré l'enrichissement préalable, le Bacille virgule peut se trouver mêlé à des bactéries dont le développement étouffe sa culture ; on a ainsi parfois des colonies nombreuses et exubérantes de Colibacilles, et surtout de *Proteus vulgaris* qui envahissent rapidement toute la plaque, et le Vibrion cholérique n'est plus isolable. Aussi est-il infiniment plus pratique de recourir au procédé suivant :

Milieu de Dieudonné. — On ensemence la parcelle de voile sur ce milieu (1), dont voici la préparation :

On mélange parties égales de sang de bœuf défibriné et de solution normale de potasse (56 p. 1000) ; chauffer à 100° pendant une demi-heure ; d'autre part, on prépare de la gélose ordinaire à 3 p. 100, neutre au tournesol ; mélanger 7 parties de gélose pour 3 parties de sang-potasse ; couler en boîte de Petri.

(1) Si les selles à examiner sont riches en vibrions, on peut se passer de l'enrichissement et les ensemencer directement, en stries, sur la gélose de Dieudonné. Cette façon de procéder fait gagner un temps précieux pour la réponse à donner.

Sous l'influence du chauffage du mélange sang-potasse, il se forme de l'ammoniaque qui confère au milieu une forte alcalinité et des qualités spéciales.

En raison de la proportion assez grande d'ammoniaque qui s'est formée, le milieu ne peut être utilisé immédiatement : d'après Dieudonné, les boîtes où le milieu a été coulé doivent séjourner plusieurs jours à 37°, découvertes et la face en bas, ou bien être chauffées cinq minutes à 65°. Un séjour de quarante-huit heures à la température du laboratoire donne les mêmes résultats. Pendant ce temps, la surface de la gélose se dessèche, et l'ammoniaque s'évapore en partie. Le milieu de Dieudonné peut donc être utilisé quarante-huit heures après sa répartition en plaques ; par contre, il ne peut plus l'être cinq à six jours après, car l'ammoniaque et l'alcalinité qui résulte de sa présence sont fortement diminuées.

Le milieu de Dieudonné présente l'immense avantage de laisser cultiver abondamment les formes vibrioniennes, et au contraire d'empêcher ou de retarder le développement de la plupart des germes qui peuvent leur être associés dans les cultures d'enrichissement. Déjà, vers la huitième ou dixième heure, la culture vibrionienne est nettement caractérisée, alors que le Colibacille, le Bacille typhique, les paratyphiques, le Bacille dysentérique, voire même le *Proteus vulgaris* n'apparaissent que beaucoup plus tardivement, ou même ne se développent pas. Quelques bactéries cependant peuvent pousser en même temps que les Vibrions : ce sont le Pyocyanique, un Coccus et un Diplobacille ne prenant pas le Gram. Avec un peu d'habitude, il est aisé de reconnaître leurs colonies à l'examen à l'œil nu ou à la loupe : elles sont en général beaucoup plus petites, plus granuleuses que celles des Vibrions.

Il est néanmoins indispensable de prélever une parcelle de ces colonies pour l'examiner au microscope. S'il s'agit de formes vibrioniennes, il faut les identifier par les procédés biologiques ; dans ce but, un repiquage en tubes de gélose ordinaire est nécessaire.

A vrai dire, le milieu de Dieudonné présente un inconvénient : c'est de ne pouvoir être utilisé que quarante-huit heures après avoir été coulé en boîtes. Neufeld et Woitte y ont remédié en ajoutant au mélange de sang potassique et de gélose 2 p. 100 d'une solution d'acide lactique à 10 p. 100 ; mais ce milieu ne conserve ses qualités électives que pendant quarante-huit heures.

L'emploi du milieu de Dieudonné a d'ailleurs été le point de départ d'un grand nombre de recherches où les auteurs, s'orientant sur le même principe, ont imaginé de nouveaux milieux destinés à le remplacer. Parmi ceux-ci, signalons ceux de Goldberger, d'Aronson, de Lange, etc.

Milieux de Goldberger. — Goldberger a proposé deux milieux :

Gélose glucosée à l'œuf. — *a.* On bat des œufs dans un égal volume d'eau ; le mélange est additionné d'un égal volume d'une solution de 6gr,5 de carbonate de soude anhydre dans 100 grammes d'eau. Faire bouillir pendant trente minutes le liquide ainsi obtenu.

b. Dans un litre d'eau, faire dissoudre :

Extrait de viande (Liebig)	3	grammes.
Peptone de Witte	10	—
Chlorure de sodium	5	—
Glucose	1	—
Gélose	30	—

Passer à l'autoclave à 100° pendant trois heures, et couler en flacons, que l'on garde en réserve.

Le milieu définitif s'obtient en mélangeant un volume de la solution *a* à cinq volumes du milieu *b*; couler en plaques. Il est teinté en jaune-paille.

Les plaques peuvent être laissées à refroidir sans couvercle pendant un quart d'heure, si l'air ambiant n'est pas trop riche en poussières. Sinon, le porter à l'étuve à 37°, sans couvercle, mais renversé. On peut l'utiliser aussitôt après.

Ce milieu serait très électif; les vibrions cholériques et cholérimorphes y poussent abondamment; les bactéries de la flore normale des fèces n'y poussent que très difficilement.

Gélose à l'infusion alcaline de viande. — *a.* Ajouter 500 grammes de viande maigre hachée menu dans 500 grammes d'eau; laisser infuser trois heures en remuant deux à trois fois; exprimer le liquide, filtrer sur coton ; neutraliser au moyen d'une solution normale de carbonate de soude (5,3 p. 100 de carbonate anhydre).

Ajouter (pour 100 centimètres cubes d'infusion neutre) 2gr,5 de carbonate de soude anhydre.

Autoclaver à 100° pendant une demi-heure à une heure; filtrer sur papier, répartir en flacons de réserve; stériliser.

b. Dans 1000 grammes d'eau, faire dissoudre :

Extrait de viande (Liebig)	10	grammes.
Peptone de Witte	10	—
Chlorure de sodium	5	—
Gélose	30	—

Répartir en flacons de réserve; stériliser.

Au moment du besoin, mélanger un volume du milieu *a* et trois volumes du milieu *b*. Couler en plaques.

Le milieu est légèrement brun et transparent.

D'après l'auteur, ce milieu est supérieur au précédent; il les préfère tous deux au Dieudonné.

Autres milieux. — Plusieurs autres milieux ont été proposés par différents auteurs pour tenter de parer aux quelques inconvénients du milieu de Dieudonné ; s'ils se signalent par certains avantages, par contre ils présentent d'autres inconvénients qui ne leur permettent pas, en général, de le supplanter.

Tels sont les milieux décrits par Pilon (parties égales de sang et de solution de carbonate de soude à 12 p. 100 au lieu de la solution normale de soude ou de potasse caustique), qui permettrait un emploi immédiat, mais qui ne donne au Vibrion cholérique qu'un développement insuffisant.

Esch, puis Kabeshima ont remplacé le sang par l'hémoglobine.

Aronson a confectionné le milieu suivant :

Agar à 3 p. 100	100 cent. cubes.
Soude anhydre à 10 p. 100	6 —
Sucre de canne à 20 p. 100	7cc,5
Alcool de fuchsine concentrée	0cc,4
Sulfate de soude à 10 p. 100	0cc,7

Le milieu de Lange est préparé comme suit :

Solution d'amidon à 5 p. 100		1 partie.
Agar neutre	1 000 cent. cubes.	6 parties.
Carb. de soude à 10 p. 100.	40 —	

Identification. — Elle consiste dans les épreuves suivantes:

1° ***Examen microscopique des colonies isolées***, révélant les caractères morphologiques précédemment décrits. Recherche de la mobilité. Constatation des cils vibratiles.

2° ***Aspect des cultures sur gélatine.***

3° ***Recherche de la réaction indol-nitreuse*** en eau peptonée.

4° ***Recherche de l'agglutination.*** — On peut employer pour la recherche de l'agglutination un procédé extemporané qui donne un résultat rapide, ou de préférence l'épreuve classique.

Procédé extemporané sur les déjections. — Dunbar a proposé la technique suivante :

Sur deux lames, on dispose II gouttes: l'une de sérum anticholérique à 1 p. 500, l'autre de sérum normal à 1 p. 50. Dans chacune d'elles, on émulsionne une parcelle de la matière suspecte. On retourne sur une lame creuse pour faire l'examen microscopique.

Quand les matières contiennent une grande quantité de Vibrions cholériques, on perçoit dans la gouttelette de sérum normal des vibrions très mobiles ; dans celle qui correspond à l'antisérum, ils sont immobilisés en quelques minutes. Si l'examen se prolonge, une véritable agglutination est perceptible.

Si la flore vibrionienne est abondante et mélangée à de nombreuses autres bactéries, ce procédé donne peu d'indications.

Épreuve classique : Détermination du taux agglutinatif. — Elle s'effectue suivant le procédé microscopique. Mais, en règle générale, pour que l'agglutination garde sa valeur diagnos-

tique, elle doit être complétée par la *détermination du titre agglutinatif* vis-à-vis du vibrion étudié.

En effet, à quel taux un vibrion doit-il être agglutiné pour être reconnu Vibrion cholérique authentique?

Les recherches de Kolle et Gotschlich et les innombrables travaux effectués depuis quelques années ont montré qu'avec un sérum agglutinant à 1 p. 4000, les espèces vibrioniennes banales ne sont guère agglutinées qu'à 1 p. 50, rarement à 1 p. 200, exceptionnellement à 1 p. 500; les Vibrions cholériques sont agglutinés entre 1 et 4 p. 1 000. Par conséquent, tout vibrion agglutiné au moins à 1 p. 1 000 par un tel sérum pourra être étiqueté « cholérique »; entre 500 et 1 000, l'épreuve devra être considérée comme douteuse.

Pour ces derniers, comme pour les vibrions trouvés non agglutinables, l'épreuve devra être renouvelée après plusieurs passages dans les milieux artificiels.

Enfin, pour ces recherches, il faudra toujours opérer sur des cultures pures, les germes d'impureté pouvant troubler les résultats de l'agglutination et même l'empêcher.

5° ***Phénomène de Pfeiffer.*** — La recherche du phénomène de Pfeiffer s'effectue comme il a été dit précédemment (p. 610). Les résultats marchent de pair avec ceux de l'agglutination : un Vibrion cholérique agglutiné spécifiquement donne toujours un résultat positif au phénomène de Pfeiffer. La proposition inverse est vraie.

6° ***Réaction d'immunité.*** — D'après Pfeiffer, on peut utiliser les propriétés immunisantes du sérum des animaux vaccinés pour identifier le Vibrion cholérique, et le différencier des espèces analogues. Un sérum anticholérique protège le cobaye contre l'infection cholérique; il reste inefficace contre l'action pathogène des autres vibrions. Sanarelli, Metchnikoff ont montré que cette affirmation n'est pas toujours exacte, car cette réaction d'immunité peut s'observer avec des vibrions étrangers au choléra.

Telles sont les réactions qui permettent, dans un temps relativement court, d'identifier le Vibrion cholérique. En dehors des caractères morphologiques, culturaux, c'est, semble-t-il, l'épreuve de l'agglutination qui paraît la plus importante des réactions biologiques à effectuer. Le phénomène de Pfeiffer donne des résultats concordant avec ceux de l'agglutination ; dans la pratique, cette dernière est donc suffisante. Nous avons vu qu'on ne peut compter, pour les raisons indiquées, sur les résultats de l'hémolyse ; la réaction d'immunité ne paraît pas assez constante dans ses résultats pour pouvoir entrer dans la pratique courante.

Sérodiagnostic du choléra. — Des essais de sérodiagnostic du choléra ont été tentés en utilisant les propriétés agglutinantes et bactéricides du sérum des cholériques.

Achard et Bensaude ont montré que ce dernier pouvait agglutiner le Vibrion de Koch à 1 p. 20 en cinq à soixante minutes. Cette réaction est donc minime, surtout quand on sait, d'après Pfeiffer, que le sérum de sujets sains peut agglutiner ce germe à 1 p. 10. Cette épreuve ne paraît donc pas utilisable pour le diagnostic du choléra. De plus, la propriété agglutinante n'apparaissant que tardivement, la recherche et l'isolement du vibrion donnent une réponse plus rapide. Tout au plus pourrait-elle être mise à profit pour révéler les cas anciens.

Le phénomène de Pfeiffer, dans ces derniers, fournit des indications plus précises : le sérum du malade est dilué dans 20, 100, 500 parties d'eau physiologique. Un centimètre cube de cette dilution est mélangé à une anse de culture de dix-huit heures et introduit dans le péritoine d'un cobaye de 200 grammes. Si, au bout de quinze à vingt minutes, la réaction est positive, on doit admettre que le sujet qui a fourni le sérum a présenté antérieurement une atteinte de choléra. Ce diagnostic rétrospectif peut être intéressant au point de vue prophylactique, notamment en ce qui concerne la recherche d'un cas resté ignoré ou méconnu.

RECHERCHE ET IDENTIFICATION DES VIBRIONS CHOLÉRIQUES DANS LES EAUX.

La recherche du Vibrion cholérique dans les eaux est plus délicate que la recherche dans les matières fécales, en raison de l'abondance et de la multiplicité des vibrions non cholériques qu'elles peuvent véhiculer.

Le Vibrion cholérique pouvant être peu abondant dans l'eau incriminée, il est indispensable de faire la recherche sur une assez grande quantité d'eau, sur 100 centimètres cubes au moins ; quelques-uns conseillent même de la faire sur 1 litre. Voici la technique habituelle :

Dans des fioles de Vivien jaugées à 200 centimètres cubes, on verse 20 centimètres cubes d'une solution de peptone dix fois plus concentrée que l'eau peptonisée habituelle (pour que, l'eau suspecte une fois ajoutée, le taux de concentration soit ramené à la normale), et on ajoute l'eau à analyser jusqu'au trait jaugeant 200 centimètres cubes. Après un séjour de huit à dix heures à l'étuve à 37°, si l'eau contient des vibrions, un trouble se produit à la partie supérieure du milieu, et un voile léger à sa surface. Si l'examen microscopique de ce voile montre la présence de vi-

brions, on pratique un ou deux passages sur eau peptonée, à huit à dix heures d'intervalle et on pratique l'isolement sur milieux solides.

Pour cet isolement, d'aucuns préfèrent la gélose ordinaire au milieu de Dieudonné, car, dans ce dernier, les vibrions non cholériques poussent avec une abondance telle que leur culture exubérante masque ou empêche celle du Vibrion cholérique, La méthode de Dieudonné nous a cependant donné, pour les analyses d'eaux, d'excellents résultats.

Si l'on se méfie de la faible teneur de l'eau en Vibrions cholériques, il ne faut pas hésiter à faire la recherche sur une quantité plus grande, 1 litre par exemple. Pour opérer sur des volumes plus considérables, on pourrait filtrer l'eau sur bougies collodionnées; on opérerait alors sur le résidu restant sur la bougie, émulsionné dans une petite quantité d'eau stérile.

On peut encore employer la méthode de Metchnikoff avec les solutions au pepto-gélo-sel.

L'identification s'opère sur les colonies isolées comme dans le cas des vibrions recueillis dans les matières fécales.

VACCINATION.

Après les premiers essais de vaccination anticholérique tentés par Ferran en 1885, de nombreux procédés furent étudiés et proposés pour leur application à la vaccination humaine.

Méthodes de vaccination. — ***Procédé de Ferran.*** — Le vaccin de Ferran n'est autre qu'une culture en bouillon du Vibrion cholérique, dont il entretient la virulence et les propriétés vaccinantes par des cultures en gélatine à la température de 20°. Les cultures en bouillon fraîchement préparé sont laissées à l'étuve à 37° pendant deux jours; puis il peut être utilisé pour la vaccination.

Procédé de Haffkine. — Haffkine cherche avant tout à obtenir un virus exalté et fixe, en pratiquant plusieurs passages dans la cavité péritonéale du cobaye. Il ensemence alors le Vibrion cholérique ainsi traité dans du bouillon à la température de 39°, et dans une atmosphère constamment aérée, avec le dispositif connu de Roux et Yersin pour la préparation de la toxine diphtérique,

Procédé de Kolle. — Le vaccin de Kolle consiste simplement en une émulsion provenant de cultures sur gélose, chauffées à 56° pendant une heure.

Procédé de Wassermann. — Wassermann précipite par l'alcool absolu des cultures en bouillon âgées de trois jours, après les avoir évaporées au bain-marie à 80° jusqu'à consistance sirupeuse. Il obtient ainsi une substance toxique pour le cobaye, qui, à dose minime, possède des propriétés vaccinantes.

Procédé de Strong. — On racle une culture sur gélose: on l'émulsionne dans de l'eau stérile à raison de 1 centimètre cube d'eau pour 20 milligrammes de culture humide : l'émulsion est chauffée à 60° pendant une heure, puis abandonnée à l'étuve à 37° pendant deux jours. On filtre au filtre Reichel, et le liquide obtenu, l'autolysat, constitue le vaccin anticholérique.

Procédé de Besredka. — Besredka a utilisé pour le choléra les *vaccins sensibilisés* qu'il a imaginés pour la peste et la fièvre typhoïde.

Tétra-vaccin de Castellani. — Castellani a préparé un vaccin quadruple dans la composition duquel entrent du Bacille typhique, des paratyphiques A et B, enfin du Vibrion cholérique dans les proportions suivantes :

Typhique	2 parts.
Para A	1 part.
Para B	1 part.
Vibrion cholérique	2 parts.

Ce vaccin est chauffé et additionné de 0,5 p. 100 de phénol.

Des expériences réalisées, il résulte que les animaux inoculés à l'aide de ce vaccin possèdent un sérum qui contient des agglutinines et des anticorps pour le Vibrion cholérique comme pour les autres germes.

Vaccin de Salimbeni. — Le vaccin préparé par Salimbeni à l'Institut Pasteur est constitué par des cultures sur agar âgées de vingt-quatre heures et chauffées à 57° pendant une heure ; il détermine chez les organismes vaccinés la production d'anticorps, témoins de l'immunité conférée. Cette agglutination apparaît le cinquième jour après la dernière injection, pour atteindre son maximum vers le quinzième jour et décliner lentement à partir du deuxième mois.

Vaccin de H. Vincent. — H. Vincent a préparé un vaccin anticholérique à l'éther : une culture sur gélose âgée de vingt-quatre heures est émulsionnée dans l'eau physiologique et agitée avec de l'éther. La masse liquide se divise en deux couches dont l'inférieure seule est utilisée comme vaccin.

Des essais expérimentaux ont été réalisés sur le cobaye vacciné à l'aide de $0^{cc},5$ sous la peau ou dans le péritoine, puis 1 centimètre cube et enfin 1 centimètre cube ; dix à douze jours après la deuxième ou la troisième injection, les animaux reçoivent dans le péritoine 2 centimètres cubes d'une culture vivante âgée de vingt-quatre heures qui tue les témoins en quatorze à seize heures. Les cobayes vaccinés résistent.

Action de ces vaccins sur les animaux. — Tous les vaccins

préparés par les méthodes précédentes donnent chez l'animal des résultats sensiblement identiques; l'injection sous-cutanée du vaccin, à dose telle que la survie soit assurée, provoque une réaction locale et générale. Une fois que l'animal est revenu à la santé, il peut supporter impunément une ou plusieurs doses mortelles, alors que les témoins injectés dans les mêmes conditions succombent rapidement.

Le vaccin sensibilisé de Besredka ne provoque aucune action locale ou générale, et l'immunité qu'il confère est obtenue au bout de vingt-quatre heures; elle dure au moins six mois.

Les injections sous-cutanées préservent de la septicémie vibrionienne. Pour prévenir la péritonite cholérique, il est préférable d'injecter le vaccin dans le péritoine. Par contre, ces divers vaccins ne semblent posséder aucune action préventive contre le choléra intestinal des jeunes lapins à la mamelle (Zabolotny, Metchnikoff).

Effets de la vaccination sur l'organisme humain. — 1° *Essais de vaccination par les voies digestives.* — Hasterlik fit sur lui-même les premières tentatives. Il ingéra tout d'abord des cultures sur gélatine, sans alcalinisation préalable de l'estomac. Aucun trouble ne s'ensuivit. Plus tard, il avala avec un de ses collaborateurs, pris comme témoin, une culture du même Vibrion, mais après avoir ingéré 1 gramme de bicarbonate de soude: Hasterlik resta indemne, tandis que son aide souffrit pendant plusieurs jours d'une diarrhée de moyenne intensité.

Ces essais furent repris par Klemperer, qui, après avoir avalé en douze jours un demi-litre de culture en bouillon stérilisé à 70° pendant deux heures, limita ses recherches à la constatation des propriétés préventives développées dans son sérum sur la péritonite vibrionienne du cobaye.

Sawtchenko et Zabolotny firent des expériences comparables, sans éprouver le moindre trouble intestinal, mais l'absence de témoins enlève à leur expérience une grande partie de sa valeur.

Metchnikoff les reprit avec ses collaborateurs sur des bases plus rigoureuses; en certains cas, la vaccination paraissait efficace, en d'autres elle semblait négative. Metchnikoff en concluait que l'ingestion de cultures de Vibrions cholériques ne protégeait pas sûrement contre le choléra.

2° *Essais de vaccination préventive par la voie sous-cutanée.* — La vaccination fut tentée tout d'abord sur un grand nombre de sujets par Ferran, puis Haffkine.

Ferran injectait son vaccin au niveau de la partie moyenne de la région brachiale postérieure : 1 centimètre cube à chaque bras, puis cinq à six jours après 1cc,5. Il pensait avantageux, pour obtenir plus sûrement l'immunité, de pratiquer dans les mêmes conditions une troisième injection de 2 centimètres cubes.

Ces inoculations produisaient une réaction intense au point

d'inoculation : rougeur et chaleur; on observait en même temps de la fièvre avec courbature, sensation de malaise et parfois une diarrhée légère. La durée de ces troubles n'excédait habituellement pas trois jours.

La technique d'Haffkine est la suivante : on pratique sous la peau du flanc une première injection de 1/10 à 1/20 de culture de virus atténué, puis, huit jours après, de virus fixe exalté. Les troubles locaux et généraux qui en résultent sont identiques à ceux qui précèdent.

Les statistiques comparées des atteintes de choléra, observées par cet auteur chez les vaccinés et les non-vaccinés, paraissaient bien en faveur de l'activité immunisante du vaccin. Mais de nouvelles expériences étaient nécessaires pour juger définitivement la valeur de ces procédés :

Les vaccinations pratiquées à l'occasion des guerres récentes ont démontré l'efficacité de la méthode.

C'est ainsi que pendant la guerre gréco-bulgare en 1913 (Sawes, Cardamatis) 150000 militaires environ ont été vaccinés contre le choléra ; les uns ont reçu deux injections, d'autres une seule; enfin un certain nombre n'a pas été vacciné. Les résultats ont été les suivants :

Vaccinés deux fois.	Morbidité.....	7 p. 1 000
— une fois.	—	42 —
Non vaccinés.....		93 —

Pendant la guerre de 1914-1918, un grand nombre de vaccinations ont été pratiquées dans l'armée autrichienne où le choléra sévissait avec intensité.

Dans l'armée de Galicie :

Chez les vaccinés deux fois.....	2 cas	sur	10 000	hommes.
— une fois.....	15 —		10 000	—
Chez les non vaccinés.....	50 —		10 000	—

Dans les autres armées, les taux de morbidité furent sensiblement les mêmes.

La vaccination a contribué encore à diminuer la morbidité dans des proportions importantes. Ainsi :

In 3e armée :

Chez les vaccinés 2 fois.....	1 p. 100 de léthalité.
Chez les non vaccinés.....	29,3 p. 100

Dans la 4e armée :

Chez les vaccinés 2 fois	15 p. 100
— 1 fois	26 —
Chez les non vaccinés	39 —

Ces chiffres prouvent hautement l'efficacité de la vaccination. C'est aussi la conclusion à laquelle s'arrête Babes à la suite de nombreuses vaccinations effectuées en Roumanie.

En Italie, le tétra-vaccin de Castellani a été également employé chez les troupes ; ce vaccin, qui ne provoque que des réactions locales et générales peu marquées, semble avoir donné d'heureux résultats préventifs.

Le vaccin de Salimbeni a été utilisé pendant la guerre en Serbie, en Russie, en Italie, et chez les troupes françaises de l'armée d'Orient : 2 injections à six jours d'intervalle, la première de 1 centimètre cube (4 milliards de microbes), la deuxième de 2 centimètres cubes (8 milliards de microbes). Réactions légères. Aucun cas de choléra n'a été enregistré, du moins à notre connaissance.

La vaccination anticholérique préventive doit donc être considérée comme une arme défensive de la plus haute valeur pour lutter contre le choléra.

L'observation des faits montre que l'immunité ainsi conférée est de courte durée ; on l'estime en général à une année ; d'où la nécessité de *revacciner* au moins tous les ans ; d'aucuns même estiment que la revaccination doit être pratiquée tous les six mois.

SÉRUM ANTICHOLÉRIQUE.

La constatation du pouvoir préventif du sérum des animaux vaccinés contre le Vibrion cholérique (Klemperer) et des sujets guéris de choléra (Lazarus) était de nature à engager à préparer un sérum anticholérique destiné au traitement du choléra humain.

Mode de préparation. — Divers procédés ont été employés :

Pfeiffer, estimant que le Vibrion cholérique n'élaborait pas de toxine soluble et que la toxine n'était qu'une endotoxine, crut pouvoir obtenir un sérum suffisant en inoculant aux cobayes et aux chèvres les corps de microbes seuls. Le *sérum antimicrobien* qu'il obtenait ainsi était doué de propriétés préventives manifestes sur la péritonite vibrionienne du cobaye, mais il ne présentait aucun pouvoir antitoxique : Metchnikoff l'essaya à titre préventif et curatif sur le choléra intestinal des jeunes lapins ; ses résultats furent totalement négatifs.

Metchnikoff, Roux et Salimbeni, au contraire, préparèrent un sérum

antitoxique, par inoculation de leur toxine cholérique. Ils injectèrent au cheval par voie veineuse, progressivement et graduellement, de petites quantités de toxine; le cheval peut ainsi supporter au bout de six mois d'immunisation 50 à 60 centimètres cubes du produit.

Propriétés du sérum anticholérique antitoxique. — Le sérum de Metchnikoff, Roux et Salimbeni est doué des propriétés suivantes :

Il agglutine les Vibrions cholériques et précipite la toxine. Il est préventif et curatif pour la septicémie vibrionienne du cobaye. Enfin, contrairement au sérum de Pfeiffer, il est antitoxique; il neutralise en effet l'action de la toxine soluble et agit efficacement contre le choléra intestinal des jeunes lapins à la mamelle.

Sur 27 lapins traités préventivement par une injection de 4 à 8 centimètres cubes de sérum, 15 survécurent (soit 44 p. 100); sur 37 témoins, 31 succombèrent (soit 84 p. 100).

18 lapins reçurent en ingestion le Vibrion cholérique en même temps qu'une injection de sérum sous la peau; 8 survécurent (soit 55 p. 100); sur 21 témoins, 5 seulement survécurent (soit 76 p. 100 de mortalité).

Mais une fois que, chez ces animaux, le choléra expérimental est déclaré, l'efficacité du sérum est nulle.

Essais de sérothérapie humaine. — Le sérum anticholérique a été, jusqu'alors, expérimenté dans un petit nombre de cas de choléra humain. Signalons les résultats intéressants et encourageants de Salimbeni, obtenus à Saint-Pétersbourg, en 1908. Sur 42 malades, 10 ont succombé, soit 23,80 p. 100 de mortalité, alors qu'à la même époque les sujets traités par les moyens usuels donnaient une léthalité de 45,6 p. 100. La mortalité a donc été réduite de moitié.

De nouveaux essais sont nécessaires pour établir sur des bases plus solides encore l'efficacité de cette thérapeutique.

CHAPITRE XLII

BACILLE DE LA PESTE

Le Bacille de la peste a été découvert en 1894 par Yersin dans le produit de raclage de bubons pesteux, à l'occasion d'une épidémie sévissant à Hong-Kong. A la même époque, Kitasato crut le découvrir

Fig. 235.— Culture du bacille de la peste sur gélose.

aussi, mais il s'agissait d'un germe différent, prenant le Gram. Le Bacille de Yersin a été retrouvé depuis lors dans toutes les épidémies humaines et animales. La reproduction de l'infection par les inoculations de cultures a démontré nettement sa spécificité.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — *Dans les cultures.* — Le Bacille pesteux se montre sous l'aspect d'un Coccobacille ovoïde à extrémités

arrondies, légèrement renflé en son milieu (fig. 235), mesurant 2 μ de long sur 1 μ de large. Examiné à l'état frais, il est immobile, dépourvu de cils et de spores. Il est parfois entouré d'une auréole, spécialement dans les milieux albumineux.

Tel est l'aspect classique sous lequel on le décèle; toutefois il présente une grande variabilité morphologique ; en effet, si, dans les milieux où il pousse rapidement, il conserve la forme coccobacillaire, sur les milieux solides le bâtonnet devient plus long ; dans

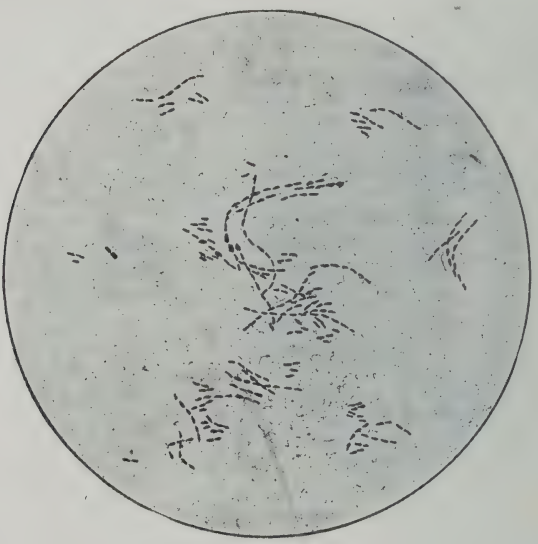


Fig. 236. — Culture du bacille de la peste en bouillon.

les milieux liquides comme le bouillon, il se groupe en *chaînettes* (fig. 236). Enfin, dans les cultures âgées, à côté des formes ovoïdes ou un peu allongées, des *formes d'involution* se montrent (fig. 237), en massue, discoïdes, se colorant mal, ressemblant assez à des sortes de levures. Elles s'observent facilement sur gélose additionnée de 3 à 4 p. 100 de sel marin (Hankin).

Dans les tissus. — Le Bacille prend toujours l'aspect coccobacillaire décrit, mais il donne aussi parfois des formes d'involution. On le rencontre ainsi surtout sur le cadavre quand la recherche est faite plusieurs heures après la mort, de même encore dans les bubons immédiatement avant la période de suppuration. Ce détail a donc son importance pour éviter les erreurs de diagnostic.

Coloration. — Toutes les couleurs d'aniline conviennent à la coloration du Bacille pesteux, mais surtout la thionine phéniquée et le bleu de méthylène. *Il se décolore par la méthode de Gram.*

Le plus généralement, le colorant se fixe de préférence aux extrémités polaires, la partie centrale restant claire et donnant une apparence vacuolaire et l'aspect dit « en navette ».

Dans les coupes, la coloration est plus difficile. Le procédé suivant donne d'excellentes préparations ;

Les coupes sont plongées pendant deux heures dans un mélange

Fig. 237. — Formes d'involution du bacille de la peste.

d'éosine et de bleu de méthylène ; laver et différencier par une solution très diluée d'acide acétique ; laver, déshydrater, éclaircir au xylol, monter dans le baume. Les Bacilles colorés en bleu tranchent sur le fond rose de la préparation (Kolle et Hetsch).

CULTURES.

Le Bacille pesteux cultive bien dans les milieux ordinaires, légèrement alcalinisés ; un léger degré d'acidité lui est nuisible. Les milieux solides doivent être légèrement humides. La température optima est comprise entre 35° et 38° ; il pousse bien à 20°. Enfin ce germe est *aérobie*.

Bouillon. — En bouillon, la culture est assez lente : elle s'effectue sous forme de grumeaux qui tombent au fond du tube, ressemblant des *flocons de neige* (fig. 238) ; cet aspect est caractéristique ; au bout de quelques jours, un voile se développe à la surface.

Si l'on verse à la surface du milieu de l'huile stérile ou du beurre, les Bacilles pesteux, très aérobies, se développent exclusivement à la surface et s'y maintiennent; ils forment des îlots qui adhèrent aux tarticules grasses et pendent dans le liquide en figurant des stalactites (Haffkine).

Gélose. — En quarante-huit heures, les colonies isolées sont petites, transparentes, à peine perceptibles à l'œil nu, assez analogues à celles du Pneumocoque, puis leur centre devient opaque et granuleux. Leur aspect est assez caractéristique (fig. 239).

Gélatine. — Les *colonies isolées* ne sont perceptibles que vers le troisième ou quatrième jour; elles sont grisâtres, puis jaunâtres, et s'entourent, comme sur gélose, d'une zone transparente d'aspect hyalin. Le milieu n'est pas liquéfié.

En piqûre, la strie profonde est blanchâtre ; à la surface se développe une tache jaunâtre.

Sérum. — Développement abondant sans caractère bien particulier.

Pomme de terre. — Si la pomme de terre est alcaline, la culture est grêle, sèche, blanc jaunâtre ; si elle est acide, la culture est nulle.

Lait. — La culture est peu abondante, sans coagulation. En petit-lait tournesolé, léger virage au rouge.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Virulence. — Le Bacille pesteux provenant des cultures est doué d'une faible résistance. Il est très sensible au chauffage à haute température et succombe en une heure à 60°, en une minute à 100°.

Il ne résiste pas plus de trois heures à la lumière solaire. Au froid il se conserve assez longtemps.

Les antiseptiques ont rapidement raison de sa vitalité : l'acide phénique à 1 p. 100, le sublimé à 1 p. 1 000, le lait de chaux le tuent en quelques minutes.

Il en est de même des acides, notamment de l'acide chlorhydrique à 1 p. 1 000, de l'acide sulfurique à 0,5 p. 1 000.

La dessiccation le tue en quelques heures.

Toutefois, dans le pus et les crachats, la résistance est plus grande,

surtout quand ces produits ne sont pas soumis à la dessiccation. On a pu trouver du Bacille pesteux vivant dans le sol humide après plusieurs mois, de même sur des vêtements.

Sur le cadavre, il dispa-

Fig. 238. — Culture en bouillon. Flocons de neige.

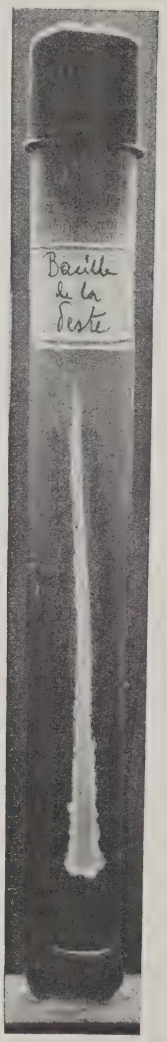


Fig. 239. — Culture sur gélose.

raîtrait en général en vingt à trente jours (Vokoto, Klein, etc.). Maassen a isolé le Bacille de Yersin de cadavres de rats ayant

séjourné dans les grains de blé pendant vingt jours à 16°. Sur les cadavres de rats conservés à 3° ou 5°, Zlatogoroff a pu le déceler au cent neuvième jour.

La virulence du Bacille de Yersin tombé dans le milieu extérieur s'atténue; mais, après plusieurs passages sur l'animal, il peut récupérer son activité première. Cette virulence est d'ailleurs assez variable dans les milieux de culture, car, à côté de colonies très virulentes, d'autres le sont infiniment moins.

Agglutination. — Le Bacille pesteux est spécifiquement agglutiné par le sérum antipesteux. Cette agglutination s'observe encore quand on le met en contact avec du sérum de sujets atteints de peste, à condition toutefois que l'infection ait évolué assez longtemps pour permettre au sérum de se charger d'agglutinines. Aussi est-ce surtout avec le sérum des convalescents que le phénomène s'observe. On peut en tirer parti pour un diagnostic hésitant.

Cette agglutination s'effectue habituellement à un faible taux, mais elle garde toute sa valeur spécifique, même à 1 p. 10, car le sérum de sujets sains ne présente aucune action agglutinante sur ce germe.

Toxine pesteuse. — On peut extraire des cultures de Bacille pesteux une toxine, qui ne rappelle en rien la toxine soluble du Bacille diphtérique et du Bacille tétanique.

Il s'agit vraisemblablement d'un endotoxine retenue par les corps microbiens.

Procédé de Lustig et Galeotti. — On racle des cultures sur gélose en boîtes de Roux, âgées de quarante-huit heures, dans une solution de potasse caustique à 1 p. 100; on les laisse macérer pendant vingt-quatre heures. Le liquide obtenu, filant, visqueux, glaireux, est filtré sur papier; après filtration, il devient clair. On neutralise par l'acide acétique dilué; un précipité se forme. Laver et dessécher dans le vide; on obtient ainsi une poudre très toxique pour les animaux.

Procédé de Roux. — On cultive le Bacille pesteux en bouillon peptoné à 2 p. 100 à la température de 20°. Un voile se forme. Après quatre à cinq semaines, on filtre sur bougie Chamberland : 1/200 de centimètre cube de liquide filtré, inoculé sous la peau d'une souris, la tue en vingt-quatre heures. Le cobaye et le lapin y sont moins sensibles; s'ils résistent, ils présentent parfois des paralysies analogues à celles de la peste humaine.

Procédé de Besredka. — Besredka a préparé une toxine pesteuse très active; il triture à sec des microbes desséchés; il les sature de chlorure de sodium, puis il additionne la pâte obtenue d'eau

distillée, jusqu'à ce que la solution arrive au taux de l'eau physiologique ; l'émulsion est abandonnée à la température du laboratoire pendant douze heures; après centrifugation, on décante la partie liquide, qui contient l'endotoxine, tuant la souris à la dose infime de 0cc,006.

La toxine pesteuse est précipitable par le sulfate d'ammoniaque. Elle est peu stable ; l'air et la lumière l'atténuent. La température de 70° l'altère profondément.

DIVERS HABITATS DU BACILLE PESTEUX.

L'homme n'est pas le seul être capable de contracter spontanément la peste. En période épidémique, diverses espèces animales peuvent être atteintes, et l'on admet depuis de longues années que toute épidémie humaine est précédée d'une épizootie pesteuse portant sur les rongeurs habitant la localité contaminée. D'autres animaux, des insectes, peuvent, sans être infectés, véhiculer le Bacille spécifique et sont les intermédiaires infectants entre l'animal et l'homme : ce sont les insectes cuticoles. Enfin le Bacille pesteux peut se rencontrer dans les milieux extérieurs, où les malades l'ont projeté.

Le Bacille pesteux chez l'homme. — *Son siège.* — **Charbons.** — Il siège en culture pure dans les phlyctènes ou vésicules qui, en raison de leur teinte noirâtre, ont reçu la dénomination de « charbons ». Ces phlyctènes sont en effet la première localisation du Bacille au niveau de la peau, à la suite des piqûres des insectes cuticoles.

Bubons. — Le siège pour ainsi dire électif du Bacille pesteux est le bubon. Les frottis, les coupes de ces bubons inguinaux, cervicaux, axillaires, etc., le montrent en quantité parfois énorme par le seul examen direct (fig. 240). L'ensemencement de la pulpe ganglionnaire le met en évidence et en culture pure. Quand le bubon évolue vers la suppuration, les formes d'involution du Bacille sont fréquentes; quand la suppuration s'établit, il devient rare et disparaît complètement pour faire place à des germes d'infection secondaire.

Sang et viscères. — Dans la forme septicémique, le Bacille est décelable dans le sang. A la faveur des lésions vasculaires et des hémorragies qui se produisent au niveau du rein, il passe dans l'urine. Les divers parenchymes viscéraux l'hébergent quand l'état septicémique est déclaré.

Crachats. — Dans la peste pneumonique, les crachats contiennent le Bacille de Yersin en abondance colossale (fig. 241). Le simple aspect d'une préparation explique, en raison du nombre des germes

spécifiques, la puissance de contagion des sujets atteints de cette localisation. Les coupes du parenchyme pulmonaire le montrent aussi en abondance énorme.

Matières fécales. — Les troubles digestifs ne sont pas rares dans la peste ; d'après Wilm, le Bacille s'y rencontre fréquemment. Il passe dans l'intestin à la faveur de l'état septicémique, ou bien il y pénètre à la faveur des crachats déglutis.

Persistance du Bacille pesteux dans l'organisme. — Le Bacille pesteux persiste dans ses localisations pendant toute la période d'état. Pendant la convalescence, il disparaît du bubon qui a suppuré et s'est ouvert.

Chez les convalescents de peste pulmonaire, Gotschild l'a vu persister quarante-huit jours après la convalescence.

Chez l'animal. — ***Grands animaux.*** — Un certain nombre d'observateurs ont signalé qu'en temps épidémique l'infection pesteuse pouvait atteindre des bœufs, des moutons, des porcs, des chiens, des chats. D'aucuns l'ont même vue survenir chez les oiseaux de basse-cour. Récemment Klodnitztky l'a vue survenir en Russie chez le chameau. Cet animal la contracterait en s'alimentant avec de l'herbe souillée par des déjections de sujets pestiférés. L'ingestion de la viande et d'organes de chameaux atteints de peste serait dangereuse pour l'homme (Cantlie et Hunter).

Rongeurs. — L'étude du Bacille pesteux chez les rongeurs est plus intéressante.

Rats et souris. — *Mus decumanus* (rat d'égout) et *Mus rattus* (rat domestique ou de grenier) sont les espèces les plus importantes à considérer à cause du contact qu'elles présentent avec la race humaine. Comme chez l'homme, le Bacille pesteux se rencontre en abondance dans les *bubons*, surtout sous-maxillaires, dans le *sang* quand la septicémie se déclare, et dans les *viscères*.

Les *souris* peuvent prendre spontanément la peste, mais moins fréquemment que le rat.

Spermophiles. — Le spermophile est très sensible à l'infection pesteuse ; la cohabitation entre spermophiles est l'origine de véritables épizooties pesteuses.

Tarabagan. — Le tarabagan ou marmotte d'Asie, très répandu dans la province transbaïkalienne, la Mongolie, la Mandchourie, le Thibet, a été accusé depuis de nombreuses années (1867) de propager la peste à l'homme, et particulièrement aux chasseurs qui se nourrissent de sa chair et le dépouillent pour en vendre la fourrure. La peste sévit en effet dans les terriers de tarabagan. Zabolotny l'a récemment démontré en isolant le Bacille de Yersin du cadavre d'un

tarabagan. D'après Tchaouskov, les lésions observées chez ces marmottes sont identiques à celles des autres animaux; le Bacille présente les mêmes localisations; les tarabagans peuvent s'infecter en dévorant des cadavres de pestiférés. Rappelons que l'épidémie de peste pneumonique humaine qui a sévi en 1911 en Mandchourie a trouvé son origine dans la peste des tarabagans.

Écureuil de Californie. — L'écureuil de Californie (*Citellus Beecheyi*) contracte spontanément la peste; la répartition du Bacille spécifique et les lésions observées sont superposables à celles que l'on connaît chez les autres animaux.

Insectes cuticoles. — Les insectes cuticoles, en suçant le sang de l'homme ou d'un animal atteint de peste, absorbent en même temps le Bacille qui a envahi la circulation.

Puces. — Les puces de rat capables de transmettre la peste sont: *Pulex cheopis* et *Ceratophyllus fasciatus*. La puce pique le rat et puise dans son sang le Bacille pesteux; elle abandonne le rat quand il meurt et pique un autre rat ou l'homme (Simond).

Le Bacille pesteux pullule dans le tube digestif de la puce; il y persiste environ deux semaines, d'après les travaux de la Commission anglaise de la peste aux Indes. La puce infectée n'inocule pas directement le germe spécifique par son aiguillon; mais, pendant qu'elle suce le sang, elle dépose des déjections qui véhiculent le Bacille; on suppose que ces déjections peuvent infecter la petite plaie produite par la piqûre.

Punaises. — La punaise est encore un réservoir de virus pesteux. D'après Klodnitzky et Jordansky, quatre à cinq jours après avoir sucé le sang d'un rat pesteux, on observe une multiplication extraordinaire des bacilles dans l'organisme de l'insecte. Le sang digéré reste encore virulent au bout de quatre-vingt-huit jours. Les auteurs se demandent toutefois si ces insectes peuvent transmettre le virus.

Mouche domestique. — La mouche domestique s'infecte aussi par le Bacille pesteux et succombe peu après. Le Bacille se trouve dans son corps (Yersin); on conçoit dès lors le rôle de dissémination qu'elle peut remplir en déposant le germe sur les objets, les aliments, etc.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE. — VOIES D'INFECTION.

Les animaux les plus employés comme réactifs de la peste sont le rat, le cobaye, la souris, le lapin; le singe est très sensible au virus pesteux; le chien, la chèvre, le mouton sont moins sensibles. Les oiseaux, assez réfractaires, peuvent contracter la peste par infection des voies digestives.

Chez les animaux sensibles, on peut, en variant les voies d'inoculation, reproduire toutes les formes cliniques qu'on observe chez l'homme.

Inoculation sous-cutanée. — Chez le rat, la souris, le cobaye,

il suffit d'introduire sous la peau une aiguille (aiguille à dissocier ou aiguille de seringue), trempée dans une culture en bouillon de Bacille pesteux, pour voir se développer l'infection. *Chez le cobaye,* quelques heures après l'inoculation, de l'œdème apparaît au point inoculé; les ganglions voisins s'hypertrophient; puis l'animal présente des crises convulsives accompagnées, surtout chez le rat, d'hémorragies diverses, pétéchies, etc., et il succombe, la souris et le rat en un à trois jours, le cobaye en deux ou cinq jours.

L'autopsie montre, au point d'inoculation, un œdème rosé, riche en Bacilles; ceux-ci pullulent de même au niveau des ganglions tuméfiés, rouges, entourés d'une zone d'œdème. Les viscères sont congestionnés; la rate, hypertrophiée, est parsemée de nombreux petits nodules miliaires; la plèvre et le péritoine sont le siège d'un exsudat où le Bacille est décelable.

Chez le rat, les symptômes et les lésions sont identiques. Si l'évolution est rapide, le bubon initial est minime, et la généralisation s'effectue d'emblée. Si elle est plus longue, le bubon est volumineux, et, si l'animal guérit, le bubon suppure. Ces constatations sont analogues à celles qu'on observe chez l'homme.

Chez le singe, l'analogie est encore plus étroite. L'inoculation faite par piqûre dans la paume de la main détermine peu après une lymphangite qui se propage le long du bras jusqu'au ganglion axillaire, qui se tuméfie et ressemble à un véritable bubon (Wyssochovitz et Zabolotny). L'évolution ultérieure est calquée sur celle de la peste humaine. L'animal succombe en trois à sept jours.

Inoculation à la surface de la peau. — On rase la peau d'un rat ou d'un cobaye, puis on y dépose une goutte de culture, ou bien on frotte la région avec un produit pesteux, un ganglion par exemple, recueilli sur un cadavre d'animal infecté.

Il ne tarde pas à se produire une phlyctène, dont le liquide est riche en Bacilles pesteux; l'infection évolue ensuite, comme dans les cas précédents, avec lymphangite, bubon, etc.

Ce procédé, dû à Weichselbaum, Albrecht et Ghon, permet de faire des diagnostics rapides en partant de produits souillés (vomissements, matières fécales), ou recueillis sur les cadavres.

Inoculation dans les veines. — Il se produit alors une véritable septicémie, le plus souvent hémorragique, plus grave que la peste bubonique.

Inoculation à la surface des muqueuses. — Il suffit de déposer sur une muqueuse saine (conjonctive, vulve, etc.), même sans excoriation préalable, une goutte de culture en bouillon, pour voir se développer une peste typique.

Avec une baguette portant à l'extrémité un petit tampon d'ouate imprégné de cultures, Roux et Batzaroff touchent simplement la muqueuse nasale d'animaux sensibles; l'opération détermine chez eux une véritable *peste pulmonaire*.

Vers la trentième heure, la température monte, l'animal devient triste et dyspnéique ; puis il suffoque, corne et tousse ; il succombe vers la fin du troisième jour. A l'autopsie, les poumons sont congestionnés, parsemés d'infarctus et de foyers hépatisés. Un frottis de suc pulmonaire montre une multitude de Bacilles pesteux. L'ensemencement du sang et des viscères est positif.

On peut encore infecter le rat par la même voie, en lui faisant respirer des gouttelettes de cultures pulvérisées.

Ces expériences ont ainsi éclairé la pathogénie de la peste pneumonique primitive de l'homme, qui s'infecte assurément en inhalant des produits pestifères.

Inoculation par les voies digestives. — En faisant ingérer à des animaux des cultures vivantes, ou des débris d'organes contenant le Bacille pesteux, on peut leur conférer l'infection (Klein, Fornano) ; la durée de l'incubation est assez variable. La première manifestation est souvent un bubon sous-maxillaire. En ce cas, l'infection a pu se produire par une excoriation buccale. C'est la lésion que l'on rencontre chez le rat qui a rongé des cadavres de pestiférés.

En d'autres cas, la lésion primitive siège au niveau de l'intestin, où l'on perçoit des follicules hyperémiés. L'autopsie montre habituellement les altérations de la septicémie pesteuse.

Inoculation intrapéritonéale. — Elle provoque une péritonite suivie d'une septicémie mortelle en vingt-quatre à quarante-huit heures. Le Bacille fourmille dans l'exsudat péritonéal, le sang et les viscères.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le diagnostic bactériologique de la peste est indispensable non seulement pour les indications précises et précoces qu'il donne concernant la thérapeutique spécifique à exercer, mais aussi pour la prophylaxie à mettre en œuvre. A ce dernier point de vue, il peut rendre des services appréciables pour dépister les premiers cas de peste et prendre les mesures nécessaires. Les recherches qu'il comporte peuvent s'effectuer sur le vivant et sur le cadavre.

Recherche sur le vivant. — Sur le vivant, on recherchera le Bacille de Yersin dans les bubons, le liquide des phlyctènes, le sang, les produits d'expectoration.

Prélèvement. — Chez un malade suspect de *peste bubonique*, ponctionner le *bubon* à l'aide d'une aiguille adaptée à une seringue, tout cet appareil ayant subi préalablement la stérilisation à l'autoclave. Préparer des frottis sur lame avec le suc ganglionnaire ainsi recueilli.

Même technique pour les *phlyctènes*, dont on puisera le liquide à l'aide d'une seringue stérile ou d'une pipette flambée.

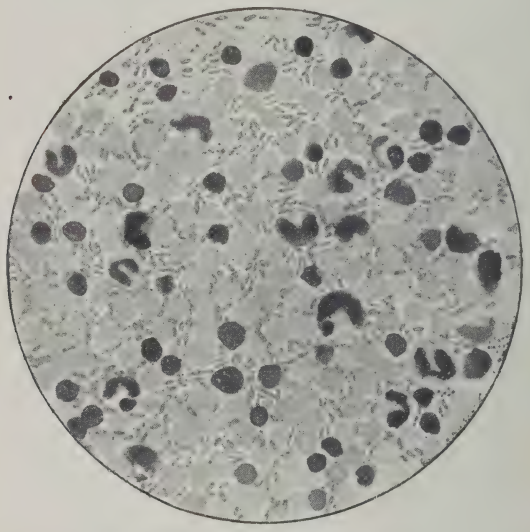


Fig. 240. — Frottis de bubon pesteux.

Si l'on soupçonne la *peste pneumonique*, examiner les *crachats*, faire quelques frottis sur lame.

L'examen du *sang* sera pratiqué, si l'on pense être en présence d'une *forme septicémique* d'emblée, sans bubon, ou secondaire à la peste bubonique ou pneumonique. Dans ce but, recueillir une goutte de sang par piqûre de l'extrémité d'un doigt ou du lobule de l'oreille. Étaler sur lames avec la technique habituelle. Quand le Bacille n'est pas abondant, on doit recourir à l'hémoculture, comme on le verra plus loin.

Examen direct. — Laisser sécher les frottis, fixer, colorer une lame à l'aide de la thionine ou du bleu de méthylène, puis une autre par la méthode de Gram composée. Cet examen, en cas de peste, révèle l'existence du Bacille pesteux avec son aspect particulier :

Coccobacilles en général très abondants, avec coloration bipolaire, ne prenant pas le Gram (fig. 240 et 241).

Isolement. — L'examen direct, à lui seul, permet souvent de formuler un diagnostic ferme. En d'autres cas cependant, les Bacilles pesteux peuvent être rares et passer inaperçus. C'est le cas des bubons qui évoluent vers la suppuration, ou sont déjà suppurés; il en est de même pour l'examen du sang où le microscope peut ne

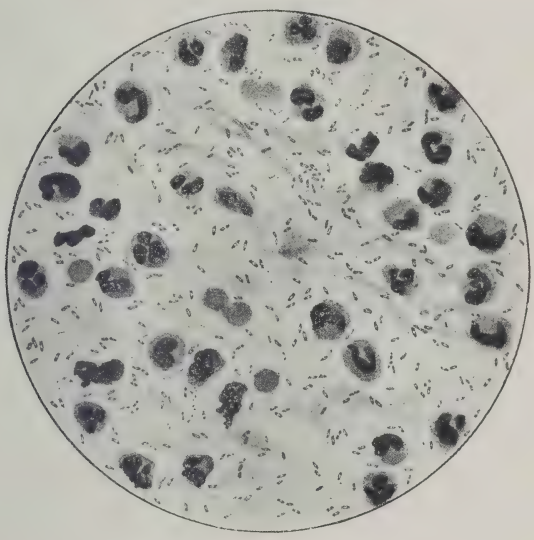


Fig. 241. — Frottis de crachats de pneumonie pesteuse.

révéler des germes qu'en très faible quantité; il faut alors recourir aux cultures.

Ensemencer en tubes ou plaques de gélose encore un peu humides le suc ganglionnaire, le liquide des vésicules, une parcelle de crachats. Après un séjour de vingt-quatre heures à l'étuve, des colonies ont poussé ; il faudra les identifier.

Pour le sang, pratiquer l'*hémoculture* : prélever 4 à 5 centimètres cubes de sang dans une veine du bras; les ensemencer dans 300 à 350 centimètres cubes de bouillon légèrement alcalinisé. Avec la culture obtenue, faire des isolements sur gélose, identifier.

Identification. — Prélever une parcelle des colonies suspectes : en faire l'examen direct sur lames, à l'état frais et après coloration. Si elles contiennent un germe rappelant par son aspect morpho-

logique les caractères du Bacille de Yersin. repiquer la partie restant sur le milieu en bouillon, gélose, gélatine, etc., qui donneront les caractères culturaux généraux.

Pour achever l'identification, *rechercher l'agglutination* à l'aide d'un sérum antipesteux. Cette méthode paraît être la plus rigoureuse et la plus précise pour permettre d'affirmer l'existence du Bacille spécifique.

En même temps qu'on effectue l'isolement du germe sur milieux artificiels, il est indispensable d'*inoculer directement* à l'animal les produits suspects. Ces inoculations seront faites chez le rat, la souris ou le cobaye, sous la peau ou par la voie cutanée. Si le produit contient du Bacille pesteux, ces animaux contractent une peste typique, que l'autopsie et les ensemencements des bubons et des viscères permettent d'affirmer.

On emploie utilement aussi l'inoculation intranasale, qui détermine une pneumonie pesteuse typique.

Enfin l'inoculation peut être effectuée avec les cultures provenant des colonies isolées. Mais il faut se rappeler ici que la virulence du germe n'est pas toujours égale à elle-même : au déclin des épidémies, en effet, la virulence s'atténue et peut même disparaître.

Sérodiagnostic. — Si l'on n'a pu isoler le Bacille pesteux, le diagnostic resté en suspens, surtout chez les convalescents, peut être affirmé par la recherche du pouvoir agglutinant du sérum du malade sur une culture de peste conservée au laboratoire. Rappelons que, dans ces conditions, le taux d'agglutination ne dépasse pas un cinquantième; mais avec les sérums normaux, le résultat reste toujours négatif à ce taux.

Recherche sur le cadavre. — Sur le *cadavre humain*, les recherches doivent porter sur le suc des bubons, le sang, mais aussi sur les sucs splénique et pulmonaire. L'examen est soumis aux mêmes règles que sur le vivant.

Sur le *cadavre des animaux*, des rats en particulier, l'examen et l'identification sont plus délicats, surtout si les tissus sont dans un état de décomposition avancée.

On pratiquera les recherches comme précédemment, sur les ganglions, le sang, les viscères. On portera particulièrement l'attention sur les groupes ganglionnaires de la région pharyngée, les ganglions submaxillaires et auriculaires, car la peste de ces animaux, prise dans les conditions naturelles, est surtout contractée par ingestion.

En ce qui concerne les inoculations directes, on aura recours de préférence à l'*inoculation cutanée* (par scarification), qui, mieux

que toute autre, permet l'infection par le Bacille pesteux, même mélangé à une foule d'autres microbes. Ce procédé convient particulièrement à la recherche du Bacille dans le contenu intestinal.

Les ensemencements seront pratiqués de préférence sur plaques de gélatine; les Bacilles pesteux s'y développent normalement, alors que la croissance des germes de la putréfaction y est retardée.

On ne saurait être trop circonspect pour affirmer, dans ces conditions, le diagnostic de peste, car chez les rongeurs les épizooties ne sont pas rares qui peuvent être produites par des germes étrangers au Bacille de Yersin.

Ces derniers appartiennent au groupe des Colibacilles, des paratyphiques; ce peut être aussi du Pneumobacille, du virus de Danysz, ou bien encore du Bacille de la pseudo-tuberculose des rongeurs, qui, par sa morphologie et ses cultures, présente beaucoup d'analogie avec le Bacille pesteux.

De plus, on a décrit (Mac Coy), surtout chez l'écureuil, une septicémie pseudo-pesteuse dont les lésions sont analogues à celles de la peste; elle est transmissible au cobaye, à la souris, au lapin par les voies cutanée, sous-cutanée, nasale et péritonéale. L'agent pathogène siège dans le sang et les tissus, mais est encore inconnu.

Un diagnostic bactériologique très serré doit donc être effectué pour éviter des erreurs.

La méthode des *thermo-précipitines*, imaginée par Ascoli pour le charbon et appliquée par Ch. Warner pour la peste, peut rendre des services :

Les viscères (rate, ganglions, foie) sont broyés et additionnés d'eau physiologique dans la proportion de 4 à 5 grammes pour 1 gramme d'organe.

Plonger dans l'eau bouillante pendant cinq minutes le ballon où on a versé ce mélange. Après refroidissement, filtrer plusieurs fois jusqu'à ce que le liquide filtré apparaisse clair ou à peine opalescent.

En verser quelques gouttes (0cc,25) dans un tube à essai; une même quantité de sérum est introduite par une pipette de verre dans un tube capillaire que l'on immerge dans le tube contenant le filtrat, de façon que l'extrémité du tube capillaire touche le fond du tube avant que le sérum commence à sourdre. Le sérum sort petit à petit, et se dépose en une couche inférieure, au-dessous du filtrat. Au point de contact des deux liquides, un anneau blanchâtre se forme si la réaction est positive.

Ch. Warner dispose l'expertise de la façon suivante : 4 tubes contenant :

1° Sérum antipesteux + eau physiologique.
2° — — + extrait de culture de Bacille pesteux.
3° — — + extrait de viscères.
4° Extrait de viscères seul.

En cas de réaction positive, le résultat est le suivant :

Tube n° 1.....	Aucun précipité.
— n° 2.....	Précipité.
— n° 3.....	Précipité.
— n° 4.....	Aucun précipité.

Il est juste d'ajouter que l'absence de précipité dans le tube n°3 ne saurait faire éliminer le diagnostic de peste, car les viscères peuvent ne pas contenir suffisamment de Bacilles pesteux pour mettre la réaction en évidence.

SÉROTHÉRAPIE.

Le sérum des animaux qui ont reçu progressivement des doses croissantes de cultures pesteuses jouit de propriétés préventives et curatives contre l'infection pesteuse expérimentale (Yersin, Roux, Calmette et Borrel).

Mode de préparation du sérum. — Les injections vaccinantes sont effectuées chez le cheval par la voie veineuse, tout d'abord avec les cultures tuées par un chauffage à 65° pendant trente minutes, puis des cultures vivantes.

Les cultures utilisées doivent être « d'origine humaine, récente et virulente » (Dujardin-Beaumetz); on les obtient en gélose sur boîtes de Roux ; on les émulsionne dans de l'eau physiologique après trois jours d'étuve à 37°.

On injecte tout d'abord dans la jugulaire un vingtième de boîte de *culture tuée* ; cette première injection détermine une fièvre élevée, durant quarante-huit heures environ ; puis toutes les semaines la dose est augmentée jusqu'à ce qu'on arrive à une culture d'une boîte entière. Quand le sérum présente des propriétés préventives nettes, on pratique les vaccinations avec des cultures vivantes, en observant la même gradation dans les quantités à injecter.

Les chevaux sont souvent atteints des mêmes phénomènes décrits au cours de la vaccination contre le méningocoque.

Effets du sérum antipesteux sur la peste expérimentale. — *Propriétés primitives.* — Tout animal qui a reçu préventivement sous la peau une quantité suffisante de sérum, puis une culture de Bacille pesteux par voie hypodermique ou péritonéale, survit sans présenter le moindre phénomène morbide.

Propriétés curatives. — Quand le sérum est injecté à titre curatif après l'inoculation de culture, les animaux survivent aussi, à condition que l'intervention ne soit pas trop tardive. Une souris

inoculée par piqûre, et recevant sous la peau un dixième de centimètre cube de sérum, seize heures après la culture, survit habituellement.

Application à la thérapeutique humaine. — La première application du sérum dû à Yersin fut faite à Canton et à Amoy en 1897. Sur 26 cas, il obtint 24 guérisons. De nombreux auteurs utilisèrent ces propriétés curatives dans des épidémies diverses. Sur 142 pestiférés, traités à Oporto (1896) par Calmette et Salimbeni, 21 ont succombé, soit une mortalité de 14,78 p. 100, alors que des malades témoins fournirent une mortalité de 63,72 p. 100.

Mode d'emploi. — Pour obtenir de semblables résultats, il faut, comme en toute sérothérapie, savoir administrer le sérum. Son action thérapeutique, en effet, varie selon le moment de l'intervention, la quantité de sérum utilisée et la voie d'introduction. Les insuccès tiennent en grande partie aux faibles doses injectées et à ce que l'injection a été faite sous la peau uniquement.

Il faut tout d'abord intervenir *le plus tôt possible* après le début des symptômes; la peste, en effet, présente une marche aiguë et l'envahissement du système lymphatique et de la circulation par le Bacille peut être extrêmement rapide.

Il faut ensuite employer des *doses massives et répétées* et des doses d'autant plus fortes que les malades sont atteints depuis plus longtemps. Injecter d'emblée 200 à 300 centimètres cubes sous la peau, ou mieux dans *les veines*. Répéter cette technique les jours suivants si les symptômes persistent. Certains conseillent d'injecter tout d'abord 50 à 60 centimètres cubes dans la veine, puis, les jours suivants, d'injecter le sérum sous la peau. En réalité, les quantités et la voie d'introduction doivent être réglées d'après l'état du sujet.

Effets sur les symptômes. — Sous l'influence du sérum, la prostration, le délire disparaissent; le cœur se régularise, le pouls devient plus ample, la tension artérielle se relève. La température s'abaisse progressivement pour revenir à la normale; les bubons diminuent de volume, et les douleurs spontanées qu'ils engendrent disparaissent. Enfin le Bacille disparaît de la circulation générale.

VACCINATION PRÉVENTIVE HUMAINE.

Une première atteinte de peste confère l'immunité. Ce principe a servi de base à la prophylaxie par la vaccination antipesteuse. Haffkine, le premier, l'a appliquée aux Indes. Divers procédés ont été conseillés et utilisés :

Cultures chauffées. — Haffkine emploie des cultures en bouillon âgées de sept à huit semaines, chauffées à 60° pendant quinze minutes et additionnées d'eau phéniquée dans la proportion de 0,5 p. 100.

Le vaccin de la Commission allemande consiste en une émulsion provenant de cultures sur gélose, chauffées à 65° pendant trois quarts d'heure. On ajoute de l'eau physiologique en calculant que chaque centimètre cube renferme $2^{mg},5$ de microbes.

Extraits microbiens. — C'est en réalité le produit préparé par Lustig et Galeotti pour la mise en évidence de la toxine pesteuse.

Cultures vivantes atténuées. — Yersin et Carré se sont servis d'un Bacille pesteux atténué provenant d'une vieille culture sur gélose, et à peine virulent pour le rat. On peut encore atténuer un Bacille par la mise en culture à 40° ou 41° (Kolle, Strong). Deux ôses inoculées sous la peau du cobaye lui confèrent l'immunité.

Exsudats chauffés. — Le vaccin de Terni et Bandi est de l'exsudat péritonéal de cobaye, chauffé trois fois à 50° et additionné de 0,5 p. 100 d'acide phénique, de 0,25 p. 100 de carbonate de sodium et de 0,70 p. 100 de chlorure de sodium.

Les effets obtenus par ces divers vaccins seraient sensiblement les mêmes. Dans l'Inde, Haffkine a observé une grande diminution de la morbidité pesteuse chez les vaccinés.

On observe toutefois des troubles locaux et généraux : au point d'inoculation, la réaction est vive : tuméfaction, douleur, chaleur ; la température s'élève et dure quelques jours. De plus, l'immunité qu'ils confèrent n'apparaît qu'après huit à douze jours ; enfin, quand l'animal prépare son immunisation, il est plus sensible que les témoins à l'infection pesteuse (phase négative). Pour éviter ces inconvénients, on a proposé la *vaccination par sérum-virus.*

Vaccination mixte par sérum-virus. — Calmette et Salimbeni conseillent d'injecter 5 centimètres cubes de sérum, puis, deux jours après, 2 à 3 centimètres cubes de vaccin d'Haffkine.

Dans ces conditions, l'immunité immédiate est obtenue, et la réaction locale et générale est très minime. Mais, alors que l'immunité due aux vaccins bactériens seuls dure plusieurs mois, celle que ce procédé confère ne durerait guère plus que l'immunité obtenue par le sérum seul.

Besredka a pensé résoudre le problème en réduisant au minimum la quantité de sérum et en utilisant un *vaccin sensibilisé.* On met en contact pendant vingt-quatre heures une émulsion de Bacilles pesteux avec du sérum antipesteux; décanter le sérum, laver les microbes qu'on libère ainsi du sérum. Les germes ainsi traités constituent le vaccin ; on peut en injecter 5 milligrammes.

Ce procédé confère chez l'animal une immunité immédiate et durant au moins cinq à six mois.

CHAPITRE XLIII

PASTEURELLOSES. — CHOLÉRA DES POULES

On désigne sous ce nom des affections microbiennes qui évoluent sur des espèces animales très variées et sont considérées comme provoquées par des germes très voisins les uns des autres, ou *Pasteurellæ*. Le prototype du groupe est le choléra des poules, étudié par Pasteur ; nous l'étudierons plus particulièrement. Les germes analogues à celui du choléra des poules furent ensuite rencontrés chez les bovidés, le cheval, le lapin, le cobaye, divers animaux sauvages et bien d'autres encore. Hueppe réunit tout d'abord ces différentes affections sous le nom de *septicémies hémorragiques* ; Toni et Trevisan proposèrent ensuite le nom de *pasteurelloses*, qui a fait fortune, surtout à la suite des travaux de Lignières.

Le domaine des pasteurelloses s'est énormément étendu depuis quelques années. Il est possible d'ailleurs que cette extension soit un peu abusive ; l'un des types qui paraissaient le mieux caractérisés, la pasteurellose canine (maladie des jeunes chiens), paraît aujourd'hui infirmé, l'agent véritable de la maladie étant sans doute un virus filtrable invisible. Il en est peut-être de même de la pasteurellose équine et — sous toutes réserves — de la pasteurellose porcine. Peut-être un certain nombre de pasteurelloses ne représentent-elles que des infections *sorties*, suivant le mot employé par M. Nicolle en d'autres circonstances, à la suite d'une infection primitive de tout autre nature. Mais quelques-unes d'entre elles, comme le choléra des poules, paraissent bien constituer des infections spécifiques. Quand bien même, d'ailleurs, quelques-unes d'entre elles ne constitueraient que des infections surajoutées, elles n'en existent pas moins et doivent être connues, car leur rôle n'est pas négligeable.

Rapports des pasteurelloses entre elles. — Unité ou pluralité. — Lignières admet six pasteurelloses différentes : pasteurelloses aviaire, ovine, porcine, bovine, équine, canine. La pasteurellose du cobaye est identique à celle du chien (Phisalix) ; celle du lapin est empruntée à d'autres espèces animales : pasteurelloses porcine, ovine, ou plus rarement aviaire (Lignières).

Les agents des différentes pasteurelloses bovines (Voy. ci-dessous) présentent de l'un à l'autre de notables divergences. De même, certains caractères (réactions à l'égard des sérums) amenèrent Wasser-

mann et Ostertag à dissocier la pasteurellose porcine en plusieurs types. Nous verrons, d'autre part, qu'en dehors des six pasteurelloses de Lignières, il doit en exister d'autres (pasteurellose caprine en particulier).

Ces pasteurelloses sont-elles foncièrement différentes? Leurs caractères généraux (Voy. ci-dessous) étant identiques, on a cherché à les différencier par leur action pathogène, par leur manière de se comporter chez des animaux vaccinés, ou par leurs réactions à l'égard des sérums spécifiques.

I. Il est admis que, dans l'infection naturelle, chaque pasteurellose est généralement spécifique pour une ou des espèces animales déterminées ; exceptionnellement, elle peut passer à d'autres. Lignières signale que la pasteurellose ovine peut se transmettre au bœuf, la pasteurellose porcine à l'oiseau ; la pasteurellose aviaire peut inversement infecter le porc (George). Il n'y a donc pas de spécificité absolue à cet égard.

II. Le pouvoir pathogène expérimental est de même contingent. Ainsi une pasteurellose porcine, primitivement inoffensive — ou à peu près — pour la poule, tue cet animal après un grand nombre de passages par le cobaye ou le lapin (Chamberland et Jouan).

III. La spécificité de la vaccination est diversement interprétée. Lignières dit qu'un animal vacciné à l'aide d'une *Pasteurella* A se montre réfractaire à cette *Pasteurella*, mais demeure sensible à d'autres *Pasteurellæ* B ou C. Dans les expériences de Chamberland et Jouan, au contraire, des poules vaccinées contre la *Pasteurella* équine, ou des lapins vaccinés avec la *Pasteurella* porcine, sont en même temps vaccinés contre la pasteurellose aviaire; mais ces auteurs reconnaissent eux-mêmes que l'immunité n'est pas complète — à beaucoup près — vis-à-vis de toutes les pasteurelloses.

IV. Les réactions sériques *in vitro* n'ont pas davantage donné d'éclaircissements définitifs. Les divers échantillons d'une même *Pasteurella*, et de même les autres *Pasteurellæ*, sont agglutinés à des taux extrêmement divers (de 0 à 60 000) par un même sérum (Chamberland et Jouan). Matsura avance pourtant que les sérums d'animaux *faiblement* vaccinés présentent une sensibilisatrice strictement spécifique pour la *Pasteurella* employée.

V. A l'égard des sérums préventifs (sérums thérapeutiques), les opinions divergent encore. Lignières, Wassermann et Ostertag considèrent que le sérum des animaux vaccinés est monovalent, c'est-à-dire actif sur la seule *Pasteurella* inoculée ; au contraire, d'après Chamberland et Jouan, un sérum préparé contre la pasteurellose porcine prémunise contre la pasteurellose aviaire.

VI. Il est bien difficile de conclure nettement, après des expériences en partie contradictoires. Mais rien n'empêche d'admettre, avec Chamberland et Jouan, que *toutes les pasteurelloses proviennent d'un même microbe ayant acquis des propriétés pathogènes, des qualités virulentes variables, en partie fixées par une longue suite de passages chez les différentes espèces animales.* La thèse est uniciste au point de vue ontogénique, et pluraliste au point de vue pratique.

CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES « PASTEURELLÆ ».

Au point de vue morphologique, les *Pasteurellæ* sont représentées par des Coccobacilles, très polymorphes, toujours immobiles, non sporulés. Ils se colorent plus facilement aux pôles qu'au centre, d'où diverses désignations : bactérie ovoïde (Nocard), Bacille à espace clair central, Bacille en navette. *Ils ne prennent pas le Gram.*

Au point de vue cultural, les *Pasteurellæ* sont aéro-anaérobies, mais de préférence aérobies; elles se développent sur bouillon, gélose, gélatine : elles ne liquéfient pas la gélatine, ne coagulent pas le lait, ne rougissent pas la gélose de Würtz (c'est-à-dire ne fermentent pas la lactose), ne poussent pas sur pomme de terre naturelle acide; leurs cultures dégagent une odeur *sui generis* (Lignières).

Le développement en culture peut se faire entre 15° et 43°. Les cultures sont stérilisées par un chauffage de cinq minutes à 55° (Chamberland et Jouan).

Les effets pathogènes sont variables suivant les types; presque toutes sont virulentes pour plusieurs espèces animales. Toutes les pasteurelloses virulentes sont pathogènes pour le lapin. Toutes se multiplient avec facilité dans le péritoine du cobaye, à tel point que l'épreuve de l'inoculation intrapéritonéale constitue un procédé courant de recherche (Lignières).

Dans les conditions naturelles, presque toutes les pasteurelloses peuvent évoluer d'une manière foudroyante, d'une manière aiguë ou d'une manière chronique.

Au point de vue pathogénique, les pasteurelloses sont tout d'abord des septicémies; mais, pour peu que la maladie se prolonge, il se produit des localisations variées, portant souvent sur l'appareil respiratoire, le tube digestif et les articulations. La septicémie initiale disparaît presque toujours assez vite, le microbe se localisant dans les lésions; en outre, l'infection pasteurellique ouvre la porte à des infections secondaires variées. Pour ces deux raisons, la *Pasteurella* est souvent difficile à déceler dans les organes.

COCCOBACILLE DU CHOLÉRA DES POULES (PASTEURELLA AVIAIRE).

Le microbe du choléra des poules, vu tout d'abord par Sommer et Perroncito, fut décrit, cultivé et étudié par Pasteur (1880).

MORPHOLOGIE.

La forme type, celle du sang et des tissus, est un Coccobacille, mesurant en moyenne 1 μ sur 0 μ,25 (fig. 242). Dans les cultures, les éléments sont souvent plus courts, en cocci isolés ou en diplocoques.

Après coloration ménagée (thionine de préférence), le Coccobacille présente nettement l'aspect en navette : coloration limitée aux pôles avec centre incolore.

Il se colore facilement par les couleurs d'aniline et ne prend pas le Gram.

Il est immobile et ne donne pas de spores.

CULTURES.

Le Coccobacille du choléra des poules se développe assez facilement sur les milieux ordinaires. Il est surtout aérobie : Lignières a obtenu une légère culture anaérobie en bouillon-sérum ensemencé largement ; mais, d'après Chamberland et Jouan, toutes les pasteurelloses sont exclusivement aérobies.

Bouillon. — Le bouillon se trouble en douze à vingt-quatre heures ; après quelques jours, la culture se concrète sur les parois, puis au fond, et le milieu redevient clair.

La culture est plus riche en *bouillon-sérum*.

Gélose. — Strie mince, blanchâtre, d'abord transparente, puis opaque.

Sérum coagulé. — Comme sur gélose.

Gélatine. — La gélatine n'est pas liquéfiée.

En strie. — Bande mince, blanc grisâtre, d'abord transparente, puis opaque.

En piqure. — Traînée blanche, d'autant plus large qu'on s'éloigne moins de la surface.

Autres milieux. — Le *lait* n'est pas coagulé ; il n'y a pas de culture apparente sur *pomme de terre*, conformément à la définition générale des pasteurelloses.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — En cultures, la *Pasteurella* aviaire demeure vivante pendant deux mois environ. Elle persiste plus longtemps à l'abri de l'air, de même que dans le sol humide (plusieurs mois).

Elle résiste peu à la dessiccation et à la chaleur ; un chauffage de quelques minutes à 58° suffit à la détruire.

Production d'indol. — Dans les cultures vieilles d'au moins quinze jours, on peut constater l'existence d'indol (Porcher et Panisset).

VIRULENCE. — ATTÉNUATION ET EXALTATION DU VIRUS.

Les cultures sont originellement virulentes, mais la virulenc baisse peu à peu, surtout dans les cultures et au contact de l'air.

Exaltation du virus. — On peut exalter la virulence par passages : un virus faible, inactif sur la poule, tue encore le moineau;

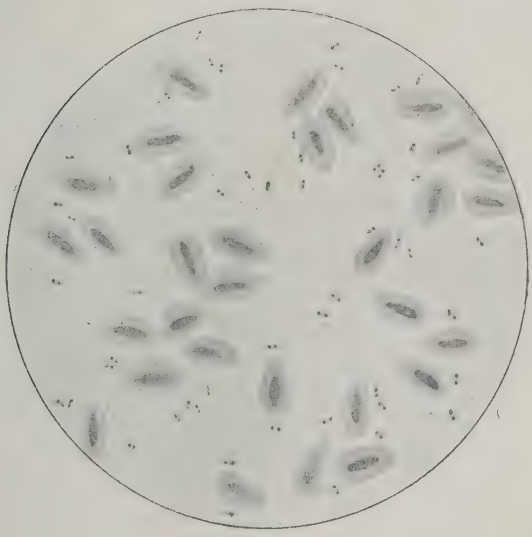


Fig. 242. — Coccobacille du choléra des poules (sang de pigeon infecté).

cinq ou six passages par le moineau l'exaltent suffisamment pour tuer la poule à tout coup.

Lignières signale comme particulièrement efficace l'inoculation dans le péritoine du cobaye (pour la plupart des pasteurelloses). Après quelques passages, la virulence est très renforcée, aussi bien dans l'exsudat péritonéal que dans les cultures qui en sont issues et dans le sang des animaux ; ces virus renforcés tuent des animaux peu sensibles (chien, bœuf, cheval). Chose intéressante, après cinquante passages par le cobaye, la pasteurellose continue à se montrer plus spécialement pathogène pour les oiseaux.

Atténuation du virus. — Dans les cultures faites en présence de l'air, à 37°, la virulence baisse peu à peu; après deux mois, elle est absolument nulle. Dans l'intervalle, elle parcourt toute l'échelle de la virulence. Cette baisse progressive de la virulence est en réalité une atténuation, car elle se transmet par hérédité.

Si, en effet, on réensemence le microbe peu virulent, les cultures filles garderont à peu près exactement la même virulence atténuée. En réensemençant tous les jours, on obtient toute une gamme de cultures filles de virulence décroissante.

Le microbe atténué n'est cependant pas sans action. Choisi au degré voulu, il provoque une simple réaction locale, sans troubles généraux, après quoi l'animal est immunisé.

C'est le prototype des vaccinations microbiennes (ou pastoriennes), édifié par Pasteur ; le choléra des poules a permis pour la première fois de créer à volonté un « virus vaccinal, qui tue, donne la maladie bénigne et protège de la maladie mortelle » (Pasteur).

L'atténuation est plus rapide en cultures sur milieux solides, à l'air et à la lumière.

ACTION PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles. — L'affection frappe surtout les poules et tous les oiseaux domestiques : dindons, pintades, canards, oies, faisans, oiseaux de volière. Elle se transmet plus rarement au lapin.

Chez les oiseaux, la forme aiguë est plus commune ; c'est son allure qui a suscité la dénomination de choléra : évolution rapide (douze à soixante heures), diarrhée, inappétence, extrême contagiosité. Il existe en outre une forme foudroyante (quelques heures) et une forme chronique, cette dernière souvent accompagnée d'arthrites purulentes.

Action pathogène expérimentale. — Oiseaux. — Tous les oiseaux sensibles à l'infection naturelle sont également réceptifs à l'inoculation expérimentale ; la poule et le pigeon se montrent les plus sensibles.

L'infection peut être réalisée par ingestion (Pasteur), par de simples érosions ou par badigeonnage de la conjonctive. Par inoculation intramusculaire, des doses minimes (quelques gouttes) de culture jeune ou de sang virulent provoquent les symptômes et l'évolution de la maladie naturelle (forme aiguë) ; à l'autopsie, on constate au point d'inoculation un peu d'œdème, et dans l'organisme des lésions de septicémie hémorragique ; sang noir (sang dissous), poumons hyperémiés et parfois hépatisés, épanchement péricardique, foie congestionné et friable, rate grosse (pas toujours), muqueuse intestinale ulcérée et parfois saignante, hémorragies dans le tissu cellulaire sous-cutané et sur les séreuses ; on trouve le Bacille en abondance dans le sang et les organes.

Quand le virus est un peu atténué, l'affection se prolonge ; on trouve alors au point d'inoculation de la nécrose musculaire. Outre les lésions de la forme aiguë, on constate une altération des muscles, devenus feuille morte.

Un virus très peu actif reproduit la forme chronique de l'infection naturelle.

Lapin. — Le lapin est aussi sensible que la poule (Pasteur), plus sensible même à l'ingestion, à tel point que le virus a été employé avec le plus grand succès pour la destruction des lapins (à Reims, en Australie).

Par inoculation sous-cutanée, des doses minimes sont mortelles en quelques heures ; à l'autopsie, on retrouve les mêmes lésions que chez la poule, plus une pleurésie double.

L'inhalation détermine également une infection généralisée (Buchner).

Autres animaux. — La *souris* est très sensible.

Le *cobaye* l'est moins ; le virus habituel ne tue qu'à forte dose par inoculation intrapéritonéale. L'injection sous-cutanée détermine un abcès.

Il en est de même chez le *rat blanc*.

Le *mouton*, les *bovidés*, le *porc*, le *chien*, le *chat* sont beaucoup moins sensibles : ils ne succombent qu'à l'inoculation intraveineuse de virus très actifs (Lignières).

TOXINES.

Les cultures filtrées demeurent toxiques pour la poule ; l'inoculation du filtrat provoque de la somnolence pendant quelques heures, mais l'animal se rétablit (Pasteur). Cette toxine produit d'ailleurs le même effet chez les animaux immunisés.

Voy. page 664, *Vaccination et Sérothérapie*.

AUTRES PASTEURELLOSES.

Pasteurella porcine (pneumonie contagieuse du porc). — Cette *Pasteurella* présente les caractéristiques du groupe, mais elle pousserait moins difficilement à l'abri de l'air, et ses cultures sur gélose sont visqueuses, adhérentes.

Son *pouvoir pathogène* est très variable suivant les échantillons. D'ordinaire elle tue le pigeon, le canard, la souris, la poule ; moins sûrement le lapin et le cobaye ; par contre, le chien, le cheval et le porc lui-même résistent davantage. La virulence pour la poule est fort inconstante ; souvent considérable à l'origine, elle diminue quand le microbe a passé par les mammifères (Lignières). Le porc ne succombe qu'avec des doses élevées et un virus très actif ; l'affection dure vingt-cinq à trente jours, et on trouve à l'autopsie de la pneumonie, de la pleurésie et des tuméfactions ganglionnaires (comme dans la maladie naturelle). Cette *Pasteurella* semble particulièrement active après inoculation par les voies respiratoires, chez le lapin et le porc (Lignières, Schütz), pourtant assez résistants.

On peut se demander aujourd'hui si la *Pasteurella* est bien l'agent spécifique de la pneumonie contagieuse. L'histoire des septicémies contagieuses et épidémiques du porc est très confuse; la clinique et l'étiologie étant insuffisantes, on a cherché à les élucider par la bactériologie. Dans ces dernières années, après bien des vicissitudes, l'accord paraissait s'être fait pour classer ces maladies en deux groupes : les unes (*swine-plaque* des Américains, *Schweineseuche* des Allemands, peste porcine ou pasteurellose) causées par la *Pasteurella* de Lignières; les autres (*hog-choléra*, ou *Schweinepest*, ou pneumonie contagieuse) dues au bacille du *hog-choléra* de Salmon. Mais on reconnaissait en même temps que les deux microbes sont très souvent associés, et cette constatation amenait certains auteurs à maintenir l'unité des septicémies du porc. Il est établi aujourd'hui que la peste porcine est due à un virus filtrable. Quant à la pneumonie contagieuse, elle a été moins étudiée à ce point de vue; les unicistes (Hutyra, Frosch et Brost) considèrent la pneumonie contagieuse comme provoquée par le même virus filtrable que la peste porcine; d'autres auteurs (Ostertag, etc.) maintiennent au contraire la spécificité de la bactérie ovoïde. La question n'est pas résolue.

Pasteurella bovine. — La *Pasteurella* bovine comporte plusieurs variétés. Elle provoque au moins quatre maladies classées : la septicémie hémorragique ou pneumo-entérite du bœuf, la pleuro-pneumonie septique des veaux, « l'entéqué » (entérite avec cachexie) d'Argentine (Lignières), la diarrhée des veaux d'Irlande (Nocard). Les microbes de ces diverses affections présentent les attributs généraux des pasteurelloses; ils sont tous pathogènes pour le lapin, le cobaye, la souris, le mouton et les bovidés. La poule, sensible aux virus de la pneumo-entérite et de la pleuro-pneumonie, est réfractaire à celui de l'entéqué. Il est généralement assez facile de trouver et cultiver le microbe à l'autopsie des animaux infectés naturellement; ici encore, on a souvent avantage à inoculer au préalable dans le péritoine du cobaye.

Pasteurella du buffle (*barbone*). — Maladie épizootique foudroyante (dix heures en moyenne) avec tuméfactions œdémateuses, manifestations trachéo-pulmonaires, le barbone reconnaît pour agent une *Pasteurella*, pathogène pour presque tous les animaux, sauf la poule, qui résiste.

Pasteurella des animaux sauvages (*Wildseuche*, maladie de Bollinger). — L'affection, caractérisée surtout par une septicémie avec hémorragies, à marche rapide, frappe les sangliers, daims, chevreuils, cerfs. La *Pasteurella* pathogène est virulente pour tous les animaux habituellement expérimentés (compris les oiseaux), de même que pour les animaux sauvages.

Pasteurella ovine (pneumo-entérite du mouton). — Ce microbe, décrit par Lignières, est l'agent de la pneumo-entérite du mouton.

Les caractères morphologiques et culturaux sont ceux de la *Pas-*

teurella aviaire ; elle n'en diffère que par la présence dans les cultures de formes strepto-bacillaires.

Les premières cultures sont difficiles à obtenir ; il faut inoculer les tissus ou organes dans le péritoine du cobaye, puis ensemencer l'exsudat péritonéal.

Le microbe est pathogène pour le mouton, le bœuf, le cobaye, le lapin, la souris. Le mouton est sensible à l'ingestion. La poule et le pigeon sont réfractaires.

Pasteurella caprine. — Nicolle et Refik-Bey étudient une *Pasteurella* qui provoque la pneumonie des chèvres. Les caractères sont analogues à ceux de la *Pasteurella* aviaire. Elle est pathogène pour la chèvre (production de paralysies dans les formes traînantes, comme dans la maladie naturelle), pour le lapin, le cobaye, la souris, le pigeon, etc.

Pasteurella équine (influenza ou fièvre typhoïde du cheval). — La pasteurellose équine est décrite par Lignières comme étant l'agent spécifique de la fièvre typhoïde du cheval ; mais, dans la même affection, Basset décrit un virus filtrable qu'il considère comme l'agent de la maladie. De même que la *Pasteurella* du chien, la *Pasteurella* du cheval constituerait alors une infection surajoutée.

Les caractères généraux sont ceux de la *Pasteurella* aviaire. Cette *Pasteurella* est pathogène pour presque tous les animaux (cheval, âne, lapin, cobaye, souris, etc.), mais les oiseaux sont moins sensibles, sans être réfractaires.

Chose remarquable, le microbe disparaît du sang et des organes avec une très grande rapidité, même dans les formes aiguës ; il a préparé le terrain à d'autres microbes qui envahissent secondairement l'organisme, en particulier au streptocoque de la gourme, qu'on retrouve souvent seul à l'autopsie et qui se trouve ainsi avoir probablement usurpé une part du domaine des pasteurelloses.

Diagnostic ; comme pour la Pasteurellose ovine (péritoine du cobaye).

Pasteurella canine (maladie du jeune âge et typhus des chiens). — On rencontre la *Pasteurella* dans la maladie du jeune âge des chiens et des chats (Lignières), de même que dans le typhus des chiens. Nous avons vu ci-dessus que son action pathogène spécifique est actuellement incertaine, l'agent spécifique étant sans doute un virus filtrable ; la pasteurellose serait une infection secondaire, d'ailleurs très importante.

La *Pasteurella* canine se présente à l'origine sous forme de Bacilles assez longs, mais elle reprend la forme typique des pasteurelloses après un seul passage par le cobaye (Lignières). Les premières cultures en bouillon sont particulières : le milieu reste limpide, il se forme des grumeaux qui se déposent ; mais des cultures en série ramènent le mode de développement habituel des pasteurelloses. Par ses autres caractères culturaux, le microbe est identique à toute *Pasteurella*.

Peu virulente au début, sauf pour le chien, le chat et les animaux de laboratoire (la, in, cobaye), cette *Pasteurella* acquiert une virulence considérable par passages successifs chez le cobaye ; elle tue alors les oiseaux.

L'inoculation intraveineuse reproduit les formes de la maladie naturelle ; un virus très actif détermine la diarrhée sanguinolente, la fièvre et l'évolution rapide du typhus des chiens. Un virus moins actif provoque la pleuro-péricardite, la chorée, les pustules cutanées des formes sévères de la maladie du jeune âge. A l'inoculation d'un virus faible succèdent des accidents rencontrés dans les formes traînantes : anémie, paralysies.

De même que la pasteurellose équine, la pasteurellose canine appelle volontiers d'autres infections ; les chiens malades ou inoculés succombent souvent à une pneumonie due au Bacille de Perez, voisin du pneumobacille.

L'inoculation de cultures stérilisées par filtration ou par l'éther provoque des troubles nerveux, des troubles de nutrition et la plupart des symptômes de la maladie (Phisalix).

Pasteurellæ des animaux de laboratoire. — Nous avons décrit ci-dessus le choléra des poules.

Il existe également des pasteurelloses naturelles chez le cobaye et le lapin (chap. XII), de même que chez la souris.

VACCINATION ET SÉROTHÉRAPIE DANS LES PASTEURELLOSES.

Vaccination. — I. Pasteur a vacciné les poules contre le choléra aviaire par deux inoculations successives. On inocule d'abord un virus faible, sûrement incapable de tuer l'animal; douze jours plus tard, on injecte un virus plus énergique (mais cependant atténué lui aussi). En raison des accidents locaux (œdème et nécrose), on inocule d'abord un aileron, puis l'autre. La vaccination est incontestablement très efficace, mais ne s'est pas répandue.

Bisanti a pu vacciner le lapin en cultivant le Bacille en sac de collodion dans le péritoine.

II. Phisalix vaccine le chien contre la pasteurellose canine par le procédé de Pasteur : inoculation de cultures (bouillon glycériné) d'abord très atténuées, puis de cultures de virulence croissante. On fait trois ou quatre inoculations. Les effets expérimentaux sont certains, mais les résultats pratiques sont discutés.

III. A l'aide d'un procédé analogue, on a pu immuniser la chèvre (M. Nicolle) et le buffle (Oreste et Marcone) contre leurs pasteurelloses respectives.

IV. Lignières préfère vacciner les animaux à l'aide de vaccins polyvalents, contenant les virus des six pasteurelloses édifiées par lui.

Sérothérapie. — I. Les sérums monovalents ont peu d'action thérapeutique (Lignières, Leclainche).

II. Lignières et Spitz préparent un sérum polyvalent par inoculation au cheval des six *Pasteurellæ* de Lignières. Les résultats thérapeutiques seraient encourageants à l'égard de la pasteurellose canine et de la pasteurellose équine.

CHAPITRE XLIV

BACILLE DU TÉTANOS

Le tétanos est produit par le développement, au niveau de la plaie qui a précédé son apparition, d'un Bacille spécial, découvert en 1883 par Nicolaïer dans le pus des animaux qu'il avait rendus

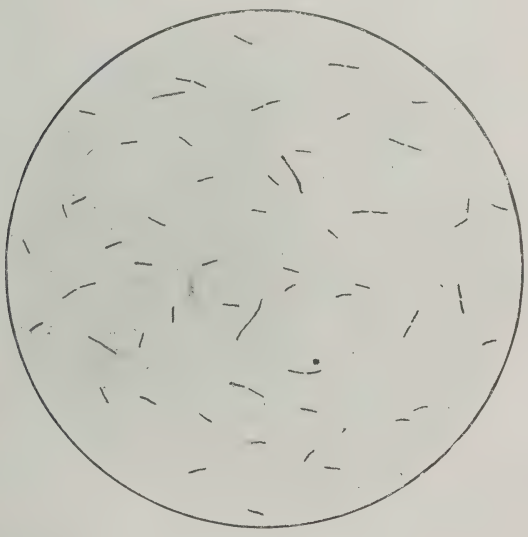


Fig. 243. — Culture de Bacilles du Tétanos en bouillon.

tétaniques par inoculation de parcelles de terre. Kitasato l'isola et le cultiva le premier, et, en montrant que l'inoculation de cultures pures provoquait le tétanos, il prouva la spécificité du germe. Les beaux travaux de Vaillard avec H. Vincent et Rouget déterminèrent les conditions dans lesquelles le tétanos pouvait éclore. Enfin l'étude de la toxine sécrétée par le Bacille tétanique devait aboutir, entre les mains de Roux et Vaillard, à l'obtention d'un sérum antitétanique, dont les effets préventifs ne sont plus à démontrer.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — *Dans le pus de la plaie tétanique.* — A côté des globules pyoïdes et de bactéries diverses, le Bacille tétanique se présente sous la forme d'un bâtonnet assez grêle, allongé, dont les bouts ne sont pas arrondis. Il mesure en

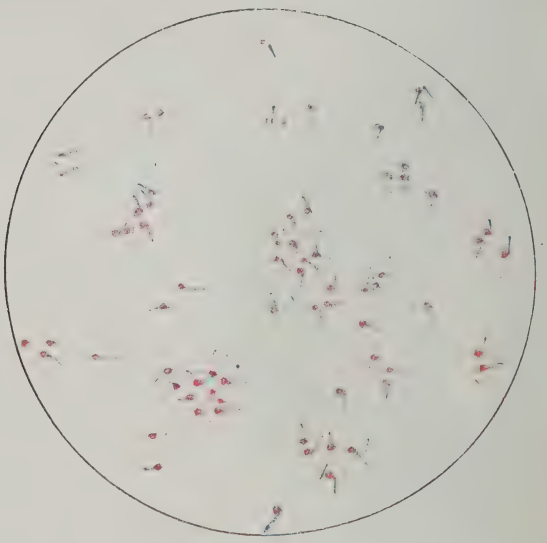


Fig. 244. — Bacilles tétaniques sporulés. Coloration des spores.

général 4 μ de long sur 0 μ, 3 à 0 μ, 4 de large. Le plus souvent, il est dépourvu de spores.

Dans les cultures. — L'aspect diffère suivant l'âge des cultures. Durant les premières heures de son développement en bouillon, il présente la même forme bacillaire (fig. 243) que dans le pus ; au bout de huit heures, il commence à sporuler. Le Bacille tétanique est alors un bâtonnet grêle, portant à l'une de ses extrémités une *spore*, sphérique, réfringente, donnant au germe la forme d'une épingle ; d'où la dénomination de *Bacille en épingle* (fig. 244).

Au bout de plusieurs jours, tous les Bacilles sont sporulés. Vers le dixième jour, le Bacille proprement dit s'atrophie, puis disparaît, et la culture ne contient plus que des spores.

Mobilité. — Examiné à l'état frais, à l'abri de l'oxygène, le

Bacille tétanique non encore sporulé est légèrement mobile. Ce sont des mouvements lents, flexueux : dès que la spore est formée, la mobilité disparaît.

Coloration. — Les couleurs basiques d'aniline colorent bien le Bacille de Nicolaïer : les Bacilles sporulés sont colorés uniformément dans leur partie bacillaire : au niveau de la spore, seuls les contours restent colorés, le centre reste incolore. Pour teinter la partie centrale de la spore (fig. 244), il faut utiliser les méthodes

Fig. 245. — Cils des Bacilles tétaniques.

spéciales à la coloration des spores. Le Bacille tétanique *prend le Gram*.

Enfin, quand la spore n'est pas encore formée, le Bacille du tétanos est muni de nombreux cils vibratiles (fig. 245) fixés aux parties latérales du bâtonnet : on les décèle par les procédés usités.

CULTURES.

Le Bacille de Nicolaïer cultive bien en milieux anaérobies, mais supporte la présence de faibles quantités d'oxygène.

Sa température optima est de 38°. Il commence à se développer à + 14°. A 44°, il succombe.

Les milieux usuels lui conviennent, mais à condition, d'après Kitasato, qu'ils soient préparés avec du bouillon frais. Il pousse assez mal dans les milieux à base d'albumine; cependant en sérum de lapin les cultures sont très virulentes (Vaillard et Vincent).

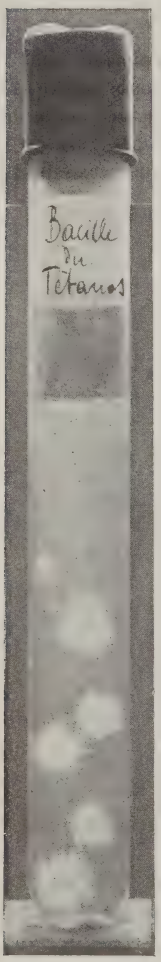


Fig. 246. — Culture des Bacilles tétaniques en gélatine.

Bouillon. — En bouillon, après vingt-quatre heures, se forme un trouble homogène, qui s'accuse les jours suivants: vers le quatorzième ou quinzième jour, la culture se dépose au fond du tube, et le liquide s'éclaircit. Dès le premier jour, on constate, à la surface, des bulles de gaz.

Ces cultures exhalent une *odeur désagréable*, rappelant celle de la corne brûlée.

Gélatine. — Les cultures obtenues par piqûre profonde (pour éviter l'action nocive de l'oxygène) et conservées à 20° apparaissent vers le cinquième jour. Au niveau de la piqûre, se forment comme des points nuageux, sur lesquels s'insèrent perpendiculairement des aiguilles fines (fig. 246). Ces cultures s'étendent de plus en plus, et la gélatine se liquéfie, vers le dixième jour, dans la partie profonde du tube, laissant intactes les régions supérieures.

Les *colonies isolées* se présentent sous l'aspect de petites sphères d'aspect nuageux, sur lesquelles s'insèrent de véritables houppes de fins rayons; autour des colonies, on constate de petites bulles gazeuses; quand, au dixième jour, la liquéfaction de la gélatine s'effectue, les colonies se réduisent à des flocons nageant dans une cupule ronde de gélatine liquéfiée.

Gélose. — Dans la profondeur, culture nuageuse, sans caractères bien distinctifs; le milieu est disloqué par de nombreuses bulles gazeuses.

Pomme de terre. — Développement maigre.

Lait. — Développement facile. Le milieu n'est pas coagulé.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — A l'état de spores, le Bacille tétanique est très résistant. Chauffées en vase clos, en milieu humide, elles supportent

sans périr quatre à cinq minutes d'ébullition ; elles résistent à une température de 80° prolongée durant six heures.

Desséchées dans un milieu albumineux (sérum, sang), Maljean les a vues souvent survivre à un chauffage de 40° dans la vapeur d'eau sous pression, durant quinze minutes.

A l'abri de l'air et de la lumière, leur vitalité dure plusieurs années. Incluses dans du sang ou du pus et seulement à l'abri de la lumière, elles conservent longtemps leur virulence. Nocard les a retrouvées vivantes après dix-huit mois sur des casseaux ayant servi à des poulains morts de tétanos à la suite de castration. Eiselsberg a pu donner le tétanos à un animal, en lui inoculant une écharde retirée de la main d'un tétanique deux ans et demi auparavant, et conservée dans une armoire.

Fig. 247. — Colonie du Bacille tétanique en gélatine (Macé).

Formation d'indol. — Les cultures en bouillon sont riches en indol.

Formation de gaz. — Les gaz qui se dégagent dans les cultures ont été analysés : on y décèle de l'azote, de l'hydrogène et des carbures d'hydrogène.

Hémolysine. — D'après Ehrlich et Madsen, les cultures filtrées de Bacille tétanique contiennent une substance, différente de la toxine, qui dissout les hématies de la plupart des animaux domestiques. Cette *tétanolysine* est très instable : elle est détruite rapidement par un chauffage à 50° pendant vingt minutes ; exposée pendant cinq heures à 20°, elle perd la moitié de son pouvoir; seule, la température de la glacière à 0° lui permet de conserver son activité pendant vingt-quatre heures.

Le tétanolysine précipite par le sulfate d'ammoniaque ; la poudre qui en résulte, après dessiccation, conserve longtemps ses propriétés.

Agglutinabilité. — Le Bacille de Nicolaïer n'est pas agglutinable par le sérum de l'homme ou des animaux atteints de tétanos. Avec le sérum de cheval vacciné contre la toxine tétanique

l'agglutination peut se produire à des taux élevés : 1/2000 et même 1/50 000 (Courmont).

HABITAT DU BACILLE TÉTANIQUE.

Dans l'organisme malade. — Le Bacille tétanique est décelable au niveau de la plaie d'inoculation ; chez l'homme, on le retrouve dans le pus qu'elle sécrète. Par contre, sauf de très rares exceptions, *il n'envahit ni le sang, ni les viscères*. Cette seule constatation a permis de supposer que la Bacille élaborait, au foyer où il s'est localisé, un poison diffusant dans l'organisme et responsable des accidents nerveux qui caractérisent le tétanos.

Dans les milieux ambiants. — Le Bacille tétanique siège, en dehors de l'organisme malade, dans tous les milieux extérieurs :

Dans la terre, terre des rues, des jardins, des champs soumis à la fumure, il s'y rencontre communément, surtout dans les couches superficielles. L'inoculation de ces produits à l'animal lui confère fréquemment le tétanos.

Les *poussières des habitations*, introduites avec la terre qui le contient, sont parfois tétanigènes (Chantemesse et Widal, Belfenti et Pescarolo, etc.). Dans les coins obscurs, les fentes des parquets, la spore tétanique, à l'abri de la lumière, peut se conserver pendant des années.

Les *végétaux* souillés par la poussière et la terre le recèlent facilement (expériences de Rietsch avec l'herbe sèche, de Peyraud avec la poussière de foin).

Il en est de même des *excréments des herbivores*, fait qui découle des constatations précédentes. Sanchez-Toledo et Veillon ont donné le tétanos à des lapins en leur inoculant des excréments de cheval et de vache non tétaniques. Ces animaux peuvent donc être des porteurs sains de spores tétaniques qui, introduites dans le tube digestif, résistent à l'action des sucs gastro-intestinaux.

Ce fait, important au point de vue étiologique, fait envisager l'animal comme un agent disséminateur du tétanos et « explique la nocuité des fumiers, le pouvoir tétanique des terres cultivées et *fumées*, de la terre des routes et surtout des rues, la quasi-constance du Bacille dans le sol des fermes, des écuries » (Vaillard).

POUVOIR PATHOGÈNE.

Le *tétanos* dit *spontané* survient chez l'homme ou l'animal à la suite d'une plaie, souvent légère, habituellement souillée par de la terre, du terreau de jardin, du fumier, ou bien des échardes de

bois, des débris de verre, etc., souillés eux-mêmes par un produit tétanifère. Chez l'homme, ce sont les jardiniers, les maraîchers, les palefreniers qui y sont les plus exposés.

Les blessures anfractueuses sont celles qui prédisposent le plus au tétanos.

Chez le cheval, le clou de rue, l'enclouure, les plaies des extrémités, les traumatismes du sabot sont les plus redoutés à cet égard.

Le *tétanos opératoire* était connu avant l'ère antiseptique. On en a décrit des épidémies ; il était dû le plus souvent à la souillure spécifique d'instruments mal désinfectés. Il n'est pas rare chez les animaux, le taureau, le cheval, surtout après la castration ou l'amputation de la queue, opérations effectuées en des régions facilement souillées par des excréments pouvant être tétanifères. La vache devient parfois tétanique après le part ou l'avortement.

On a signalé pendant la guerre d'assez nombreux cas de tétanos chez les sujets atteints de *gelures des pieds*, l'infection tétanique s'étant développée à la faveur des ulcérations sphacélées où les tissus sans défense ont permis sans doute à la spore tétanique apportée par la terre et la boue, de germer et de déterminer les symptômes connus.

Enfin, à côté du tétanos qui survient peu de jours après la blessure, il y a place pour un *tétanos tardif* ou *retardé*, apparu dans plusieurs catégories de circonstances :

1° Lors de la mobilisation ou de la migration spontanée d'esquilles osseuses ou de corps étrangers dans une blessure déjà ancienne pouvant remonter à trois ou quatre mois, en partie cicatrisée, mais suppurant encore ou donnant lieu à des abcès de voisinage;

2° Presque immédiatement après une intervention chirurgicale portant sur le foyer d'une blessure encore en évolution dont la date remontait à trois ou quatre ou même six mois ;

3° Après une intervention chirurgicale portant sur une blessure ancienne datant de plusieurs mois, complètement cicatrisée, malgré la présence d'un projectile toléré par l'organisme.

Les examens bactériologiques ont établi que dans ce cas, à la surface des projectiles extraits, on pouvait parfois déceler le Bacille tétanique (A. Lumière).

Ces faits donnent à penser qu'en certaines circonstances, le Bacille tétanique peut vivre à l'intérieur des plaies ou même au niveau des plaies cicatrisées d'une *vie latente* d'où il sort sous une influence quelconque, de préférence un traumatisme ou une opération nouvelle.

Maintes fois constatés pendant la guerre, ils imposent comme

on le verra plus loin, des mesures préventives spéciales destinées à lutter contre sa présence et son pouvoir pathogène qui s'effectue successivement à plus ou moins longue échéance.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

En général, les animaux sont sensibles à l'infection tétanique. Dans les laboratoires, on utilise de préférence la *souris*, le *rat* et le *cobaye*; le *chien* est très résistant : la *poule* et le *pigeon* peuvent supporter impunément de très fortes doses de virus; ils sont réfractaires.

Pour obtenir le tétanos expérimental, il suffit d'injecter, sous la peau ou dans les muscles de la cuisse d'un animal sensible, une petite quantité de produit renfermant des bacilles ou des spores tétaniques.

Inoculation de pus ou de terre tétanifères. — On inocule sous la peau d'un animal du *pus recueilli sur une plaie* ayant provoqué le tétanos. Il se produit au point d'inoculation une tuméfaction plus ou moins étendue. Trois à quatre jours après, des contractures apparaissent tout d'abord au niveau de la région injectée, puis se généralisent; des attaques convulsives se produisent à la faveur de la moindre excitation. Bref, le tableau clinique du tétanos humain finit par se réaliser; l'animal succombe trente-six à quarante-huit heures après le début des symptômes.

A l'autopsie, on trouve au point d'inoculation un foyer purulent contenant, à côté des germes de la suppuration, de rares échantillons de Bacille tétanique. Ce pus peut servir à réinoculer avec succès d'autres animaux, mais, après trois passages ainsi effectués, les résultats restent négatifs (Vaillard).

Les viscères paraissent normaux, sauf une congestion pulmonaire passive due à la dyspnée prémortelle.

En injectant de la *terre tétanifère* dans les mêmes conditions, on obtient les mêmes effets; mais, au point d'inoculation, se produit souvent une escarre sèche ou un exsudat pseudo-membraneux dus à l'existence de germes associés.

Souvent l'animal succombe avant qu'il ait manifesté des symptômes tétaniques : la terre contenant fréquemment du Vibrion septique, ce dernier provoque une septicémie rapidement mortelle.

Inoculation de cultures pures. — L'inoculation de cultures pures de Bacille tétanique par les voies sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse, intrapéritonéale, sous-dure-mérienne, réalise un tétanos typique. L'introduction par les voies digestives reste sans résultat.

Les cultures jeunes sont en général peu tétanigènes, car elles contiennent encore peu de toxine. Des vieilles cultures, riches en toxine, doivent être employées de préférence.

Inoculation sous-cutanée. — Il suffit de très faibles doses de cultures en bouillon (1/80 de centimètre cube) pour déterminer le tétanos chez la souris et le cobaye; chez le lapin. il faut employer au moins 0cc,5 à 1 centimètre cube.

Après douze à vingt heures d'inoculation pour la souris, de deux à huit jours pour le lapin, le tétanos éclate. Les contractures débutent par le membre inoculé, puis s'étendent au membre opposé et se généralisent. La mort survient chez la souris en vingt-quatre à quarante-huit heures, chez le lapin en deux à cinq jours environ après l'apparition des premiers symptômes.

Avec des doses minimes, non mortelles, l'animal présente un tétanos localisé au membre inoculé. D'ailleurs, suivant la quantité injectée, l'activité des cultures, la résistance de l'animal, le tétanos peut prendre une forme aiguë ou chronique et aboutir en vingt ou trente jours à la mort, mais aussi à la guérison spontanée.

L'autopsie des animaux inoculés sous la peau ou dans les muscles ne montre qu'un œdème très léger au point d'inoculation, ou même aucune altération dans la région inoculée; le bacille spécifique est rarement décelable au microscope. Cependant l'ensemencement d'un lambeau de tissu conjonctif prélevé au même point donne toujours une culture du germe. Le sang et les viscères restent stériles.

Inoculation intraveineuse, intrapéritonéale. — L'*inoculation intraveineuse* ou *intrapéritonéale* est suivie d'un tétanos généralisé d'emblée. Quand les doses ont été fortes, l'ensemencement copieux du foie, de la rate, du cerveau, de la moelle osseuse donne des cultures de Bacille tétanique, mais le sang est toujours stérile.

Inoculation sous-dure-mérienne. — L'*inoculation sous la dure-mère* provoque un tétanos de type céphalique avec trismus initial, qui se généralise dans la suite.

TOXINE TÉTANIQUE.

Le Bacille tétanique se localise strictement au niveau de la plaie initiale; il ne se généralise pas. Par conséquent les symptômes généraux, contractures, etc., doivent relever de l'action d'un poison élaboré par le germe et diffusant dans l'organisme. L'existence de cette toxine a été démontrée pour la première fois, en 1890,

par Knud Faber; elle a été bien étudiée par Vaillard et Vincent.

Mode de préparation. — On ensemence le Bacille tétanique dans un ballon contenant du bouillon peptoné *frais*. On porte à l'étuve à 37° pendant dix-huit à vingt jours. A ce moment, on filtre sur bougie Chamberland; le filtrat obtenu présente une réaction alcaline et dégage l'odeur caractéristique; il est très toxique, car il tue la souris à la dose de 1/1000 de centimètre cube.

Un artifice permet d'en augmenter encore la toxicité; Vaillard et Vincent ont montré qu'il suffit d'utiliser ce fait que le bacille se développe facilement dans un milieu où une première génération a déjà élaboré son poison : dans un filtrat provenant d'une culture en bouillon datant de vingt jours, et tuant le cobaye à la dose minima de 1/150 de centimètre cube, on fait un nouvel ensemencement; dix-huit jours après, nouvelle filtration : le liquide tue le cobaye à 1/500 de centimètre cube. On ajoute 20 centimètres cubes de bouillon pour 350 centimètres cubes de la culture ancienne; filtration après seize jours. Dans ces conditions, 1/1000 de centimètre cube de filtrat tue le cobaye et 1/100000 la souris.

Propriétés et nature de la toxine. — Les premières recherches avaient fait supposer que la toxine tétanique était une ptomaïne (Brieger). D'autres lui attribuèrent les propriétés des alcaloïdes. Ehrlich a pensé qu'elle était composée de plusieurs substances, l'une la *tétanospasmine*, agent convulsivant énergique, l'autre la *tétanolysine*, différente de la précédente, ne possédant aucune propriété tétanisante. En réalité, la toxine tétanique se rapproche assez étroitement des diastases, comme Roux et Yersin l'ont démontré pour la toxine diphtérique, avec laquelle elle présente de grandes analogies.

Comme les diastases, elle est très altérée par une température de 65° pendant une demi-heure; elle est tuée à 80° pendant trois heures.

En vase clos, à l'abri de l'air et de la lumière, elle peut conserver pendant quatre mois son pouvoir toxique. Exposée à l'air durant un mois, elle perd une grande partie de son activité; l'effet est plus rapide sous l'influence de la lumière solaire.

Par évaporation dans le vide sur l'acide sulfurique et à la température ordinaire, la toxine se réduit à un résidu brun, amorphe, très toxique. Additionné d'alcool à 90°, celui-ci en dissout une partie qui reste atoxique après évaporation. La partie insoluble dans l'alcool et très soluble dans l'eau donne aisément le tétanos à l'animal. La dialyse de cette substance tétanique s'effectue assez lentement.

Comme les diastases, la toxine tétanique adhère aux précipités de phosphate de chaux et d'alumine, que l'on détermine dans sa masse par addition de chlorure de calcium : on les lave soigneusement à l'eau stérile, puis on les inocule sous la peau du cobaye : ce dernier contracte le tétanos.

Pour J. Courmont et Doyon, le poison tétanique ne serait qu'un ferment soluble dénué de toxicité par lui-même, mais pouvant déterminer une fermentation de certaines substances de l'organisme : la véritable toxine en résulterait. Cette interprétation n'a pu être admise par les divers auteurs.

Enfin la toxine est contenue dans le sang des tétaniques. Niesen, Vaillard, etc., ont pu provoquer le tétanos chez l'animal en lui inoculant du sang recueilli sur des cadavres de tétaniques.

On a vu plus haut combien la toxine tétanique est peu résistante vis-à-vis des agents extérieurs. Cependant, quand elle est desséchée elle est beaucoup moins labile : après quinze minutes de chauffage à 120° et même 135°, elle ne perd rien de son activité ; à 154° pendant le même temps elle conserve encore son énergie ; elle ne la perd qu'à 159° et encore 100 doses mortelles peuvent-elles encore provoquer chez la souris un tétanos local (Morax et A. Marie).

La dessiccation, d'ailleurs, est la méthode de choix qu'on utilise pour obtenir une longue conservation. Après précipitation des cultures filtrées par le sulfate d'ammoniaque, qu'on élimine par dialyses répétées, puis dessiccation, on obtient un produit très actif qui garde sa toxicité spécifique pendant très longtemps (Brieger et Fraenkel, Tizzoni). On utilise, à cet effet, avec avantage des solutions mères à 1/10 qui se conservent fort bien dans l'obscurité, en les préservant de l'oxydation par une couche mince de paraffine liquide disposée à leur surface.

L'addition d'eau glycérinée et la conservation au froid permettent d'avoir à sa disposition une toxine très active *pendant des années* (M. Nicolle et Truche).

Comme les toxines du même ordre (toxine diphtérique notamment), la toxine tétanique est très sensible à l'action de l'*acide lactique* et de l'*acide nitrique*. D'après A. Marie et Tiffeneau, ces acides n'agissent pas en la neutralisant, mais en la détruisant complètement. Même destruction par le *chlorhydrate de bétaïne* et la *névrine* ; de même aussi les *alcalis caustiques* et les *bases quaternaires* (hydrates d'ammonium composés) anéantissent son activité, les premiers par destruction pure et simple, les seconds par neutralisation. A. Marie a montré en outre que l'*adrénaline* exerce *in vitro* sur la tétano-

toxine une action neutralisante des plus énergiques, puisque 1/100 de milligramme peut neutraliser, 50 doses mortelles pour la souris; le *chlorhydrate neutre de quinine* neutralise, à la dose de 0gr,001, 5 doses mortelles. Ces substances semblent agir par leur action oxydante au même titre que le peroxyde de calcium, l'eau oxygénée, les oxydases, la laccase.

Effets expérimentaux de la toxine. — L'injection de toxine à l'animal sensible par n'importe quelle voie (*sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse*, etc.) reproduit trait pour trait le tétanos, tel qu'on l'obtient par inoculation de cultures.

A l'autopsie, on ne note aucune lésion particulière des viscères.

Par *injection intracérébrale* de toxine, Roux et Borrel ont provoqué un tétanos à caractères particuliers: une très faible dose détermine une grande excitation, des crises convulsives intermittentes, des troubles moteurs et de la polyurie ; l'animal succombe rapidement. Le lapin, peu sensible à la toxine tétanique reçue sous la peau, est au contraire très sensible à l'injection intracérébrale; le cobaye l'est moins, alors qu'il suffit au contraire d'une très faible dose sous la peau pour lui conférer un tétanos mortel.

En injectant la toxine dans *le péritoine* et *différents viscères* (testicule, foie, rein, utérus, etc.), J. Binot a déterminé une autre variété de tétanos : *tétanos splanchnique*, différent des précédents par l'évolution et les symptômes :

Après une incubation assez lente, le début se manifeste par une sorte de frémissement vibratoire généralisé, puis des spasmes apparaissent à distance du point inoculé: les contractures mettent les pattes en extension perpendiculaire; ces contractures présentent des rémissions : jamais elles ne sont permanentes; la démarche est impulsive ; l'attitude rappelle celle d'un cheval de bois ; la dyspnée est assez analogue à la respiration de Cheyne-Stokes. Enfin la mort survient dans l'hypothermie, plus rapidement, à dose égale, que par injection sous-cutanée.

Ce tétanos rappelle certaines atteintes à évolution rapidement mortelle, que l'on observe chez l'homme quand l'infection s'est faite par le péritoine, l'utérus, etc.

Mode d'action de la toxine. — La toxine tétanique est un poison du système nerveux. Son affinité spéciale pour ce dernier est démontrée par l'expérience classique de Wassermann et Takaki :

On mélange de la toxine et de la matière cérébrale broyée; on centrifuge ; le liquide qui surnage est décanté et injecté au cobaye; cet animal ne prend pas le tétanos; la toxine semble donc avoir été retenue par la substance nerveuse.

Les recherches d'A. Marie prouvent que la toxine arrive au système nerveux par deux voies : une partie passe dans la circulation, d'où elle est extraite par la fixation aux cellules nerveuses ; l'autre est absorbée par les filets nerveux périphériques qui la portent de proche en proche, par le cylindraxe, au niveau des centres. Il en est certainement ainsi pour le tétanos dit moteur ; dans le tétanos splanchnique, l'absorption se ferait par les filets sympathiques.

En effet, après A. Marie, Zupnik sectionne les troncs nerveux de la patte postérieure d'un lapin ; l'injection de toxine tétanique dans les muscles du membre ainsi énervé reste sans aucun effet.

D'autre part, quand l'injection est pratiquée dans les troncs nerveux, A. Marie, puis Meyer et Ramson ont pu conférer un tétanos aigu en utilisant une dose de toxine inoffensive par voie veineuse. Sawamura a montré en outre que plus le point d'inoculation se trouve rapproché des centres, moins il est nécessaire d'injecter de toxine pour produire un tétanos mortel.

Reste à connaître les détails de la pathogénie du tétanos né dans ces conditions :

D'après A. Marie, la toxine est absorbée par les terminaisons nerveuses au sein de la lymphe et transportée le long du cylindraxe jusqu'aux cellules de la moelle épinière.

Dans la suite, le poison serait fixé par les cellules nerveuses.

Wassermann avait pensé qu'il s'agissait d'une neutralisation de la toxine tétanique produite par une substance se comportant à la manière d'une antitoxine.

Contre cette interprétation, Roux et Borrel estimaient que le poison était simplement fixé, *adsorbé* et immobilisé par le système nerveux ; Metchnikoff et A. Marie admettaient que l'innocuité du mélange cerveau-toxine était assurée par les phagocytes attirés par la substance nerveuse.

Cependant il est hors de doute qu'à côté de l'action phagocytaire il y a place pour une action spécifique des cellules cérébrales dans la neutralisation de la toxine. En effet :

1° La substance grise du cerveau neutralise l'action de la toxine, alors que la neutralisation est nulle ou peu accusée avec la substance blanche ;

2° Le chauffage à 56° de la matière cérébrale ou médullaire lui enlève ce pouvoir spécifique ;

3° Traitée par l'éther, la substance cérébrale perd ce pouvoir ;

4° D'autres poisons n'ayant aucune action sur le système nerveux, ne subissent pas ce phénomène de fixation.

De tous ces faits A. Marie conclut que dans la fixation, c'est-à-dire

l'adsorption et la neutralisation de la toxine tétanique par la substance nerveuse, deux éléments doivent intervenir : un élément physico-chimique et un processus phagocytaire.

D'après les recherches de Takaki, puis de S. Lœwe, de A. Marie et Tiffeneau, la neutralisation de la toxine serait assurée par des lipoïdes et les albuminoïdes du cerveau.

MÉCANISME DE L'INFECTION TÉTANIQUE DANS LES CONDITIONS NATURELLES.

« La pénétration du Bacille tétanique dans une plaie ne résume pas toute l'étiologie de la maladie. A cet incident, certaines conditions doivent s'ajouter, dont l'intervention est nécessaire pour que l'infection se produise ; et c'est parce que celle-ci exige le concours simultané de plusieurs facteurs que le tétanos reste rare » (Vaillard).

Vaillard et H. Vincent ont en effet démontré que *les spores tétaniques provenant des cultures, débarrassées de la toxine qu'elles y ont élaborée, et injectées dans un tissu sain, ne provoquent pas le tétanos.*

Voici d'ailleurs leur expérience fondamentale :

On injecte à des cobayes ou à des souris 0cc,5 de culture sporulée en bouillon, mais chauffée à 80°, température qui détruit la toxine sans altérer les spores. Cette dose énorme reste inoffensive pour l'animal. C'est que, aussitôt après l'inoculation, les spores sont englobées et détruites par les phagocytes (fig. 248).

Le tétanos survient au contraire quand on éloigne les phagocytes par addition d'acide lactique, doué de propriétés chimiotactiques négatives, ou si l'on protège les spores contre les leucocytes, en les enfermant avec du sable fin dans de petits sacs de papier Berzélius, qui établit une barrière entre elles et les leucocytes.

L'innocuité des spores pures, sans toxine, contraste avec le fait des inoculations positives effectuées chez l'animal à l'aide de parcelles de terre tétanigène ne contenant cependant que quelques spores. Il en est de même pour le tétanos humain. Pour que le tétanos éclate, il faut donc des conditions particulières permettant aux spores de germer. Ce sont les suivantes :

Traumatisme. — La nature du traumatisme joue un rôle important : des spores sans toxine ne provoquent pas le tétanos si la porte d'entrée est une plaie simple, superficielle, régulière. Le tétanos survient au contraire quand elles sont injectées dans un tissu mortifié par une brûlure, l'écrasement, dans un foyer hémorra-

gique, etc., conditions qui annihilent la défense de l'organisme et la phagocytose et permettent aux spores de germer.

Associations secondaires. — Le rôle des associations microbiennes dans la production du tétanos est considérable.

L'expérience suivante (Vaillard et Vincent) en est une preuve :

On injecte sous la peau du cobaye des spores sans toxine, incapables de produire le tétanos, mais en même temps $0^{cc},5$ d'une culture de *Microbacillus prodigiosus* : trente-deux heures après, débute un

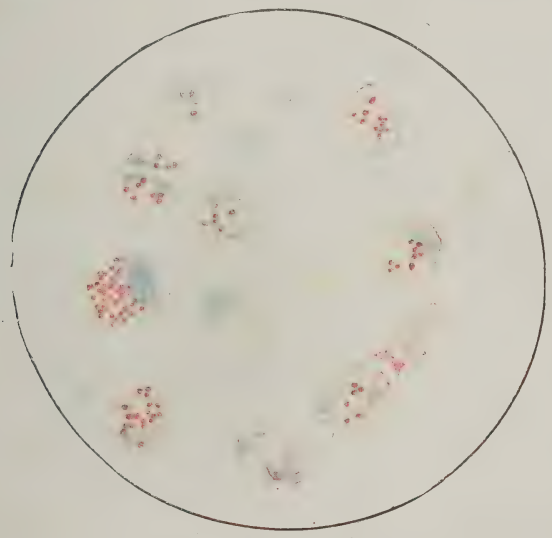


Fig. 248. — Spores sans toxine phagocytées (expérience de Vaillard).

tétanos mortel. Les phagocytes se sont emparés de ce dernier germe et ont respecté les spores tétaniques qui ont pu germer à loisir et sécréter la toxine.

Ce fait explique comment la terre, si pauvre en spores tétaniques, peut tétaniser l'homme ou l'animal à la faveur des microbes banaux qu'elle renferme, et qui jouent ainsi un rôle favorisant très marqué. Ce rôle favorisant, toutefois, n'est pas dévolu à tous les germes; Vaillard et Vincent n'ont pu provoquer le tétanos quand le microbe associé était du staphylocoque, du streptocoque, du *subtilis*, du pneumobacille. Pour qu'un produit tétanique puisse donner le tétanos, il faut donc la présence :

1° Du Bacille ou des spores tétaniques;

2° D'un germe capable de favoriser sa germination.

Rôle de la chaleur. — La chaleur est encore un élément favorisant (H. Vincent). Des cobayes inoculés avec des spores tétaniques sans toxine, placés à l'étuve à 40° durant deux à trois jours, contractent un tétanos suraigu évoluant comme le tétanos splanchnique : le bacille s'est généralisé dans les tissus. Chez des cobayes injectés depuis trente et soixante jours, puis mis à l'étuve dans les mêmes conditions, le tétanos survient encore. Ces faits s'expliquent par la destruction des phagocytes sous l'influence de ces températures élevées, permettant ainsi la germination des spores restées immobilisées dans les leucocytes.

Rôle des substances chimiques. — D'après H. Vincent, les sels de quinine agissent à la façon de l'acide lactique et favorisent l'infection tétanique quand ils sont injectés en même temps que les spores sans toxine. Bien plus, chez des cobayes inoculés avec ces dernières depuis quelques jours et restés sains, on injecte sous la peau un sel de quinine : le tétanos éclate, et le Bacille tétanique, resté à l'état latent et pour ainsi dire appelé au niveau du point d'inoculation de la quinine, y pullule abondamment et se généralise même au niveau de tous les viscères.

DIAGNOSTIC DE L'INFECTION TÉTANIQUE.

Recherches chez l'homme ou l'animal. — Sur le vivant et le cadavre, le Bacille tétanique doit être recherché uniquement au niveau de la plaie tétanique. On sait en effet que, dans la grande majorité des cas, il n'existe pas de généralisation dans le sang circulant.

Examen direct. — Prélever du pus ou de l'exsudat au niveau de la plaie. On en fait des frottis sur lame. Colorer par la méthode de Gram avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée à 1/20. Dans les conditions naturelles, on décèle ainsi, entre des germes associés, le Bacille tétanique prenant le Gram. Il s'y trouve habituellement en minime abondance. De ce qu'on ne l'y décèle pas, on ne saurait conclure à son absence. En ce cas, il faut toujours recourir aux cultures.

Chez les animaux qui ont reçu sous la peau des cultures pures, cet examen reste le plus souvent négatif, mais le Bacille se révèle quand on ensemence des fragments de tissu conjonctif prélevé au niveau du point inoculé.

Mise en culture. — On ensemence tout d'abord le produit tétanifère en bouillon peptoné frais et en anaérobiose. Mise à l'étuve à 38°.

Vers le cinquième jour, le bouillon est trouble et contient des bacilles en épingle mélangés à une foule d'autres germes.

Pour purifier la culture, on chauffe à 100° pendant une ou deux minutes; les microbes étrangers sont tués, la spore tétanique résiste. On réensemence en bouillon et dans le vide, et, après plusieurs passages semblables, la culture ne renferme plus que le Bacille tétanique à l'état de pureté.

Parfois il est mélangé à du Vibrion septique et à un Bacille pseudo-tétanique, à spore terminale ; ils résistent tous deux au chauffage. Pour les isoler, il convient de recourir aux milieux solides et plus particulièrement à l'isolement sur gélatine en tubes de Vignal, où l'on cueille les colonies séparées.

Inoculations. — On soumet alors à l'inoculation les cultures ainsi isolées. S'il s'agit de Bacille tétanique, elles reproduisent le tétanos comme il a été indiqué plus haut.

Recherche dans la terre, les poussières, etc. — La recherche directe est malaisée ; il convient de recourir tout d'abord à l'inoculation, à l'animal, des fragments supposés tétanifères. On recherche ensuite, suivant le procédé précédent, le Bacille tétanique sur le cadavre de l'animal.

Rappelons qu'un certain nombre d'animaux infectés dans ces conditions succombent par le Vibrion septique avant que le tétanos n'ait eu le temps de se déclarer.

SÉRUM ANTITÉTANIQUE.

Le sérum des animaux immunisés par injection de doses progressivement croissantes de toxine tétanique présente des propriétés qui ont été utilisées dans la pratique journalière pour prévenir et essayer de guérir le tétanos. Behring et Kitasato, en 1890, ont montré le pouvoir antitoxique que possède un tel sérum. Roux et Vaillard poursuivirent son étude; leurs expériences aboutirent à des déductions importantes sur la valeur de la sérothérapie antitétanique.

Préparation du sérum. — On immunise les chevaux contre la toxine tétanique en injectant tout d'abord des doses de cette dernière, affaiblie par le mélange avec une solution iodo-iodurée. Ces injections sont répétées tous les trois à quatre jours. Vers le vingt-cinquième jour, le sérum présente déjà un certain pouvoir antitoxique que l'on renforce alors puissamment par les injections sous-cutanées de toxine pure (10, 15, 20 centimètres cubes, etc., tous les deux ou trois jours). Au bout de six semaines environ, on injecte alor

dans les veines 50, 100, 150... jusqu'à 350 centimètres cubes. Le cheval supporte sans dommage ces doses énormes de toxine, dont deux gouttes suffisent à tuer un cheval non immunisé.

Dix jours après la dernière injection, on recueille le sérum par une saignée. Pour entretenir ensuite l'immunisation, on injecte à nouveau de fortes doses, à quelques jours d'intervalle.

Propriétés du sérum. — *Pouvoir antitoxique.* — On mélange *in vitro* du sérum antitétanique et une dose sûrement mortelle de toxine. Le tout est injecté à l'animal ; il survit et ne présente aucun symptôme.

Roux et Vaillard ont ainsi pu obtenir un sérum qui, à la dose de 1/100 000 de centimètre cube, neutralise cent doses mortelles de toxine.

Ce pouvoir antitoxique une fois connu, E. Roux et Vaillard établirent dans quelle mesure et dans quelles conditions il pouvait être utilisé pour prévenir et même guérir le tétanos.

Pouvoir préventif : **Contre la toxine tétanique.** — Un animal reçoit sous la peau du sérum antitétanique, puis, quarante à soixante minutes après, une dose mortelle de toxine tétanique ; il ne présente aucun symptôme et survit.

Si le sérum et la toxine sont injectés *simultanément* en des points différents, ces deux substances diffusent avec une rapidité inégale dans les tissus ; la toxine devance le sérum, et la minime quantité qui échappe alors à l'antitoxine suffit à provoquer un tétanos limité, léger et toujours curable.

Enfin, quand le sérum est injecté *après* la toxine, mais avant le début des symptômes tétaniques, il se produit toujours un tétanos local. Plus l'injection de sérum est tardive, plus sa dose doit être considérable pour empêcher la généralisation du tétanos et la mort.

Contre l'infection tétanique. — Contre l'infection tétanique expérimentale, le pouvoir préventif s'exerce sur une marge moins restreinte, car il existe toujours un certain intervalle entre le moment de l'inoculation et celui où la toxine est mise en circulation. Par contre l'empoisonnement est continu, le bacille continuant à sécréter sa toxine tant qu'il est vivant. Ce sont en réalité les conditions de l'infection naturelle.

L'injection de sérum *avant* l'infection et *au moment* de l'infection protège sûrement et complètement les animaux.

Si le sérum intervient *après* l'infection, la préservation est certaine, à condition que le sérum soit injecté quarante heures après l'inoculation tétanigène, et que le sérum soit utilisé en quantité suffisante.

Si l'injection bacillaire est pratiquée dans les muscles, la prévention devient aléatoire, en raison de la moindre activité phagocytaire qui s'y développe.

L'immunité conférée par le sérum n'est d'ailleurs pas durable. Après son élimination de l'organisme, vers le douzième ou quinzième jour, les spores tétaniques immobilisées par les phagocytes n'étant plus sous l'influence du sérum, peuvent germer et lancer dans la circulation la toxine, qui ne trouve plus d'antitoxine pour annihiler ses effets.

L'application de ces données essentielles a été faite par Nocard sur les grands animaux domestiques. Sur 2500 animaux ayant reçu du sérum aussitôt après des opérations souvent suivies de tétanos (castration, amputation de la queue, hernie, etc.), aucun n'a pris le tétanos. Sur 600 autres traités un, deux, quatre jours et plus après des blessures souillées de terre, de fumier, des clous de rue, etc., un seul a contracté le tétanos. A la même époque, 314 animaux non traités étaient atteints.

Réunissant les statistiques de Nocard, Labat et Vallée, sur 16917 animaux traités préventivement, Vaillard ne compte qu'un cas de tétanos.

Chez l'homme, le pouvoir préventif est indéniable. Une foule de faits montrent que les chirurgiens n'observent plus le tétanos chez les blessés qu'ils ont injectés préventivement. Les quelques exceptions à la règle concernent des cas où le sérum a été injecté trop tardivement après la blessure inoculante et où, le bacille continuant à pulluler dans la peau, les injections n'ont pas été répétées après l'élimination du sérum.

Les faits observés pendant la guerre ont hautement confirmé cette manière de voir et consacré définitivement la valeur de la sérothérapie préventive.

La diminution considérable des cas de tétanos observée depuis que chaque blessé reçut une injection préventive, en est une preuve péremptoire.

Mais les succès de cette médication préventive ne s'obtiennent qu'à certaines conditions essentielles :

1° L'injection doit être faite à dose suffisante (au moins 10 centimètres cubes) ; celle-ci doit être doublée ou triplée suivant l'importance de la blessure;

2° En de nombreux cas, une réinjection s'impose, à la fin de la première semaine, dans tout traumatisme grave, fatalement exposé aux accidents septiques. Des réinjections ultérieures peuvent être légitimes si la plaie reste profondément infectée, ou si elle est

l'objet d'explorations en vue de l'ablation de débris de projectiles, débris vestimentaires, etc. ;

3° Enfin chez tout blessé porteur d'une plaie suspecte, récente ou datant de plusieurs mois qui doit subir une intervention chirurgicale, une nouvelle injection doit être pratiquée avant l'acte chirurgical. Il en est de même quand la plaie est le siège d'une mobilisation ou d'une migration spontanée d'esquilles, de corps étrangers, etc., qui en certains cas, ont pu jouer le même rôle provocateur du tétanos qu'une intervention opératoire.

Pouvoir curatif. — De leurs expériences sur l'animal, E. Roux et Vaillard avaient conclu que le sérum antitétanique ne possédait aucune action curative sur le tétanos déclaré. Quand, en effet, les premiers symptômes apparaissent, « la toxine élaborée au foyer d'infection est parvenue aux centres nerveux, et ceux-ci peuvent être assez atteints pour que la mort survienne fatalement. L'antitoxine, injectée sous la peau ou dans le péritoine, neutralise bien la toxine en circulation, mais ne remédie pas aux lésions produites et ne peut rien contre un empoisonnement réalisé » (Vaillard).

Dans l'application à la thérapeutique humaine, il en est de même; le sérum ne peut rien contre les lésions déjà constituées, mais en neutralisant la toxine au fur et à mesure de son élaboration dans le foyer tétanique, il est capable d'enrayer les progrès de l'intoxication. Aussi la sérothérapie échoue-t-elle dans les cas aigus et dans le tétanos splanchnique d'origine viscérale. Par contre, il paraît modifier heureusement l'évolution des accidents dans les cas à début tardif et à marche lente ou chronique.

Employé dans un but thérapeutique, le sérum peut être injecté *sous la peau*, mais à doses fortes et répétées. Dans les cas plus graves, utiliser la *voie veineuse*. Quelques succès comptent à l'actif de la sérothérapie *intrarachidienne*. Enfin, à la suite de leurs expériences sur l'animal, Roux et Borrel se sont adressés à la *voie intracérébrale*.

Ayant constaté que, dans le tétanos, le sérum introduit sous la peau agit contre la toxine en circulation, mais non contre la toxine fixée par les éléments nerveux, ils eurent l'idée de porter directement le sérum au contact de la substance nerveuse. En effet, chez des cobayes rendus tétaniques, l'injection intracérébrale de sérum arrête l'évolution du tétanos, et ils guérissent. Malheureusement, en thérapeutique humaine, cette méthode n'a pas donné tous les succès auxquels on pouvait s'attendre : à côté de quelques cas de guérison, de nombreuses atteintes mortelles ont été observées, malgré l'emploi de cette nouvelle méthode. En la perfectionnant, il est possible qu'on enregistre un jour de meilleurs résultats.

VACCINATION ACTIVE.

L'histoire des blessures observées pendant la guerre aura montré que, dans certains cas en raison de la prolongation de la suppuration d'une plaie, le blessé ne peut être longuement maintenu en état de défense par la sérothérapie préventive. Il a semblé à Vallée et L. Bazy que cette dernière pouvait alors être remplacée avantageusement par une *vaccination active*.

Les auteurs ont pensé qu'il serait possible de vacciner l'organisme humain comme Roux et Vaillard avaient vacciné les animaux en vue de l'obtention d'un sérum thérapeutique; comme eux ils ont utilisé la toxine tétanique atténuée par addition d'une solution iodée (1 gramme d'iode et 2 grammes d'iodure de potassium pour 200 centimètres cubes d'eau physiologique).

Plusieurs blessés atteints de traumatismes graves, de gelures étendues et profondes des pieds, de fractures du membre inférieur, ont subi cette vaccination. Celle-ci a consisté en trois injections à cinq jours d'intervalle à l'aide des mélanges suivants :

1re vaccination :	1 cent. cube	d'un mélange de	{ 2/3 de toxine. 1/3 de solut. iodée.
2e —	2	—	du même mélange.
3e —	5	—	de toxine et 2 cent. cubes de solut. iodée.

La saturation de la toxine par l'iode étant instantanée, le mélange était réalisé au moment de l'emploi.

Il n'a été observé aucune réaction, ni locale, ni générale. Après un mois de traitement, les blessés étaient restés indemnes; leur sérum, à la dose de 1 centimètre cube, contenait d'ailleurs 10 unités antitoxiques.

L'immunisation n'étant complète que vers le dixième ou douzième jour après la dernière vaccination, il est indispensable de recourir, dès la blessure, à la sérothérapie préventive; mais en cas de menace permanente de tétanos, la vaccination doit être mise en œuvre en la commençant le cinquième jour après l'injection sérique.

CHAPITRE XLV

LA GANGRÈNE GAZEUSE. — VIBRION SEPTIQUE

LA GANGRÈNE GAZEUSE.

Très fréquente dans la chirurgie d'autrefois, la gangrène gazeuse avait progressivement reculé devant l'application à la chirurgie des méthodes pastoriennes, antisepsie et asepsie. Elle avait à peu près complètement disparu en France depuis une trentaine d'années. Mais les circonstances spéciales créées par la guerre de 1914-1918 ont vu réapparaître un grand nombre de « gangrènes gazeuses des plaies de guerre », ce qui a permis de poursuivre et de compléter les travaux sur la pathogénie de cette maladie.

Les premières recherches de Pasteur avaient abouti à considérer comme agent de la « septicémie expérimentale » le Vibrion septique, retrouvé ensuite chez l'homme par Chauveau et Arloing et par d'autres auteurs. Dans la suite, vu la rareté des cas, la maladie fut peu étudiée en France, mais des observations nouvelles faites en Amérique et en Allemagne permirent de découvrir un agent différent du Vibrion septique, le bacille de Welch, ou *Bac. perfringens* des auteurs français.

Les recherches effectuées au cours de la guerre ont complété et rectifié les notions précédentes. Il a été établi que la gangrène gazeuse est l'œuvre de trois germes anaérobies principaux, qui sont le Vibrion septique, le *Bac. perfringens*, et le *Bac. bellonensis* (Sacquépée) ou le *Bac. œdematiens* (Weinberg et Seguin). Nous reviendrons plus loin sur chacune de ces espèces.

A un point de vue général, nous indiquerons simplement, d'après les recherches de l'un de nous, la proportion respective des différentes espèces : sur 100 cas, on a trouvé 82 fois le *Bac. perfringens*, 28 fois le Vibrion septique typique, 35 fois le *Bac. bellonensis*. Ces germes pathogènes sont communément associés deux à deux.

La flore microbienne des gangrènes gazeuses comporte en outre dans la plupart des cas, diverses espèces, dont les plus fréquentes sont, parmi les anaérobies, le *Bacillus sporogenes* et le *Bacillus pu-*

trificus; parmi les aérobies, le Streptocoque, le *Proteus* et bien d'autres.

On peut enfin rencontrer parfois dans les gangrènes gazeuses des agents pathogènes différents de ceux signalés ci-dessus, spécialement le *Bac. fallax* ou le *Bac. histolyticus* de Weinberg et Seguin.

Aussi est-il nécessaire d'établir d'une manière rigoureuse les bases pathogéniques de la gangrène gazeuse.

On a utilisé dans ce but l'*épreuve du cobaye protégé* (Sacquépée et de la Vergne). On sait que les produits provenant de gangrènes gazeuses authentiques, en pleine évolution, déterminent régulièrement la gangrène gazeuse par inoculation au cobaye. Nous verrons d'autre part qu'on peut préparer des sérums actifs contre le Vibrion septique, le *Bac. perfringens* et le *Bac. bellonensis*. Si donc il est exact que la maladie est bien due habituellement à l'un des trois germes précédents, agissant seuls ou associés, on doit pouvoir « protéger » le cobaye contre l'action pathogène des produits gangréneux humains : il suffira pour cela de lui inoculer, en même temps que ces produits, les trois sérums spécifiques désignés plus haut. C'est ce que l'expérience vérifie : lorsqu'on inocule au cobaye un mélange renfermant d'une part les trois sérums spécifiques, d'autre part une macération de produits gangréneux, le cobaye résiste dans 96 p. 100 des cas ; dans les expériences de contrôle, faites par inoculations de macération seule (sans sérum), le témoin a toujours succombé. Il résulte donc de ces faits que, 96 fois sur 100, la gangrène gazeuse est bien due au Vibrion septique, au *B. perfringens* ou au *B. bellonensis*, agissant seuls ou associés. Dans 4 p. 100 des cas seulement, il y a lieu d'incriminer des germes différents.

VIBRION SEPTIQUE.

Le Vibrion septique est le premier germe anaérobie qui ait été décrit. Il fut découvert par Pasteur (1875) et considéré comme l'agent de la septicémie expérimentale, alors qu'un autre germe, aérobie, la bactéridie charbonneuse, était l'agent du charbon bactéridien. Ces recherches réfutaient définitivement les objections faites par Leplat et Jaillard à la théorie parasitaire du charbon.

Chauveau et Arloing (1884) démontrent ensuite que, chez l'homme, le Vibrion septique est un agent de la gangrène gazeuse.

En France, le Vibrion septique est étudié ensuite à diverses

reprises, spécialement par Roux et Chamberland, Besson, Leclainche et Morel, etc. Les caractères de l'espèce sont nettement tracés ; microbe d'études des plus classique, le Vibrion septique est bien connu des bactériologistes français qui s'intéressent aux anaérobies, et l'étudient sur des souches incontestables.

En Allemagne, Koch décrit un *Bacillus œdematis maligni*, dénomination reprise ensuite avec des acceptions diverses : Ghon et Sachs l'appliquent à un germe identifié au Vibrion septique authentique

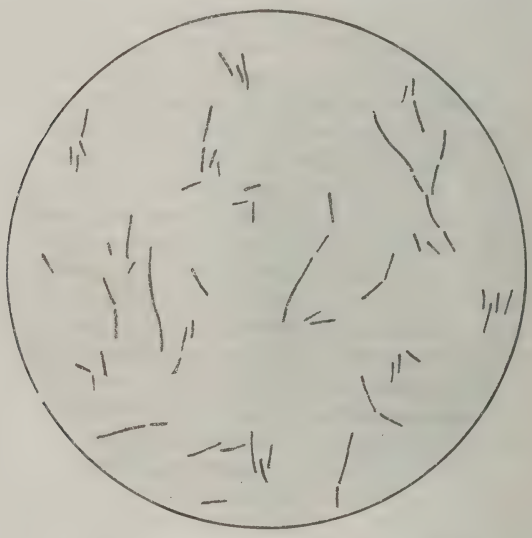


Fig. 249. — Vibrion septique. — Culture en bouillon.

(de Pasteur), alors que von Hibler désigne sous le même nom un bacille différant quelque peu du précédent par ses propriétés protéolytiques. Ces errements de terminologie ne sauraient obscurcir pour nous l'histoire de l'espèce Vibrion septique.

Jusqu'en ces dernières années, la gangrène gazeuse ayant à peu près disparu (au moins en France) sous l'influence des nouvelles méthodes chirurgicales, le Vibrion septique semblait ne plus devoir intéresser la pathologie humaine. On sait combien les circonstances de la guerre ont au contraire permis la réapparition de la gangrène; et les études poursuivies à ce sujet ont déterminé le rôle du Vibrion septique, et sur certains points complété son histoire.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le Vibrion septique est un long bâtonnet (3 à 15 μ de long), plus fin que la bactérie charbonneuse (0μ,3 à 1μ de large). Il est droit ou flexueux, à extrémités coupées net. Dans les cultures et dans l'organisme, il se montre isolé ou sous forme de longues chaînettes d'éléments placés bout à bout

Fig. 250. — Cils de Vibrion septique.

(fig. 249) ; mais, contrairement à la bactéridie charbonneuse, ces éléments sont de dimensions très inégales.

Examiné à l'état frais, il est mobile ; il présente des mouvements de reptation. Vu dans le sang, « il écarte les globules rouges comme un serpent écarte l'herbe dans les buissons » (Pasteur). Cette mobilité ne se montre qu'à l'abri de l'air. On peut s'en rendre compte sur des préparations fraîches entre lame et lamelle ; au centre, les germes sont mobiles ; à la périphérie où ils subissent le contact de l'air, ils sont immobiles.

Coloration. — Il fixe bien toutes les couleurs d'aniline et *prend le Gram*. Toutefois, dans cette dernière technique, il est indispensable d'employer le violet de gentiane phéniqué et de laisser agir

la solution de Gram pendant cinq minutes; sinon il arrive que la décoloration s'effectue.

Cils. — Le Vibrion septique est pourvu sur toute son étendue de cils très nombreux (fig. 250), trois à quatre fois plus longs que le corps microbien, formant des torsades.

Spores. — Dans les cultures et dans les cadavres, peu de temps après la mort, ce qui ne se produit jamais pour le charbon, on observe des spores, se montrant à l'état frais sous l'aspect de points

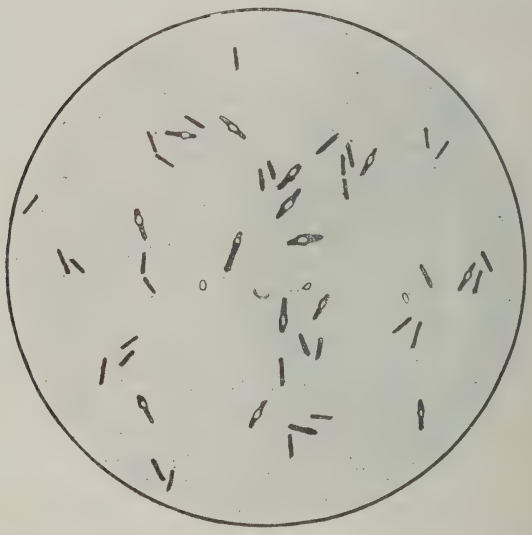


Fig. 251. — Vibrion septique. Culture sur gélose âgée de trois jours. Spores.

ovoïdes, réfringents, siégeant soit dans le corps du bâtonnet (fig. 251), soit près d'une extrémité. A leur niveau, le corps du bâtonnet se renfle légèrement. Elles se colorent par les procédés usités pour la coloration des spores.

CULTURES.

Le Vibrion septique est anaérobie. Toutefois il pousse dans les milieux où l'air est simplement raréfié; Rosenthal a même pu l'acclimater à la vie en aérobiose.

Bouillon. — Après quinze à vingt heures de séjour à l'étuve, le bouillon devient uniformément trouble. La culture dégage une odeur de putréfaction, grâce à la formation abondante de gaz, tels

que l'acide carbonique et l'hydrogène sulfuré. La réaction du milieu reste alcaline. Puis un dépôt se précipite au fond du tube, et le milieu s'éclaircit. Les spores prennent naissance déjà au bout de vingt-quatre heures ; elles sont perceptibles surtout dans le dépôt, où les corps vibrioniens se désagrègent progressivement.

Le bouillon Martin, le bouillon de poule, de veau conviennent très bien.

Pour obtenir de grandes quantités de culture, employer le procédé imaginé par Roux (Voy. plus loin pour la préparation de la toxine).

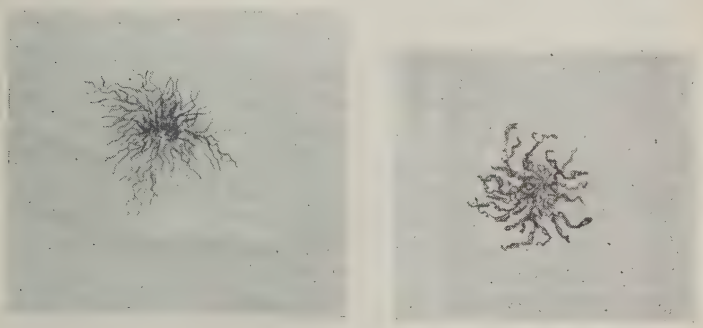


Fig. 252. — Vibrion septique. Colonies isolées en gélose glucosée profonde, grossies 25 fois.

Lait. — Développement assez abondant avec dégagement de gaz et coagulation en un temps variable. Le milieu devient acide.

Gélose glucosée profonde (gélose de Veillon). — Les *colonies isolées*, déjà visibles après vingt-quatre heures, sont bien développées après deux jours. Vues à la loupe, ou au microscope avec faible grossissement, elles se présentent comme des houppes arborescentes, souvent plus compactes au centre (fig. 252). Ces colonies demeurent petites. On observe une abondante production de gaz.

Sérum coagulé. — Se développe sans liquéfier.

Gélatine. — Les *colonies isolées* apparaissent vers le deuxième ou troisième jour sous forme de points nuageux à contours flous, blanchâtres. Bientôt la gélatine se liquéfie ; enfin on observe au pourtour des bulles de gaz qui tendent à disloquer le milieu.

En *piqûre profonde*, le long de la piqûre, prend naissance, vers le deuxième jour, une ligne opalescente sur laquelle se greffent des renflements globuleux, de petites sphères d'aspect nuageux. En

même temps des bulles de gaz apparaissent, formant des fissures où s'étend la culture. La liquéfaction débute autour des sphères pour envahir ensuite toute l'épaisseur du milieu.

Pomme de terre. — On ne constate pas de culture appréciable.

Milieux liquides organiques. — Dans les milieux liquides organiques, sang, sérum, ascite, jus de viande, bouillon additionné de ces produits, la culture est très abondante.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — La résistance du Vibrion septique est variable, suivant qu'on l'observe dans le virus frais ou desséché.

Une température de 100° détruit le virus frais en quelques minutes, les spores provenant de cultures sur gélose ou gélatine en cinq à quinze minutes. A 90°, les spores sont tuées en trente minutes, à 80° en dix à douze heures. Quand le virus est desséché, il faut une température de 120° pendant quinze minutes pour avoir sûrement raison de sa résistance.

A elle seule, la dessiccation ne semble posséder aucune influence nocive sur la vitalité : dans le sol et les poussières, en effet, la spore résiste de longs mois, indéfiniment même si elle est à l'abri de la lumière, comme dans la profondeur du sol.

La résistance aux antiseptiques est très marquée; le sublimé à 1 p. 1000, l'acide phénique à 5 p. 100, les vapeurs d'iode n'ont aucune action après vingt-quatre et même quarante-huit heures de contact. D'après San Felice, les sels de potasse ont sur les spores une action antiseptique puissante, alors que les sels de soude restent inactifs. La chaleur aide l'action de certains antiseptiques; l'acide phénique à 5, 2 et même 1 p. 100, maintenu à la température de 36°, détruit le virus en six heures de contact (Chauveau, Arloing, Cornevin).

Virulence. — La virulence est assez variable d'un échantillon de Vibrion septique à un autre ; certains même sont avirulents pour le cobaye.

Pour un Vibrion septique donné, la virulence peut être modifiée. Cornevin l'aurait affaiblie par l'action prolongée d'antiseptiques tels que l'acide gallique et la coumarine, ou par passages successifs par le rat blanc. Arloing, Cornevin et Thomas l'ont atténuée par séjour à l'étuve à 37° en ampoules scellées.

La virulence peut être exaltée par passages sur le cobaye, à ce point que 1 centième de goutte peut tuer le lapin en huit heures (Besson).

Actions chimiques. — Le Vibrion septique attaque diverses substances chimiques : les sucres, l'amidon, la dextrine, les matières azotées; à leurs dépens, il forme de l'alcool, de l'acide butyrique, de l'acide acétique, du formol, puis des gaz : hydrogène sulfuré, hydrocarbures, anhydride carbonique, etc.

Action sur le blanc d'œuf cuit. — Dans les cultures en bouillon additionné de blanc d'œuf cuit (Voy. p. 181), le cube de blanc d'œuf n'est pas attaqué, même après plusieurs mois.

Pouvoir agglutinant des sérums. — Le Vibrion septique est agglutiné par le sérum provenant des animaux immunisés (Leclainche). D'après les résultats de Markoff, Meyer, Weinberg et Seguin, la plupart des échantillons de Vibrion septique sont agglutinés sensiblement au même taux par un même sérum agglutinant. Il y a toutefois des exceptions.

Hémolysine. — Les filtrats de cultures de cinq jours possèdent des propriétés hémolytiques, thermolabiles, ne résistant pas à 55° (M. Nicolle, Césari et Jouan).

Tous les échantillons dissolvent les hématies de cobaye; la plupart dissolvent les hématies de lapin.

Cette action hémolytique est neutralisée par le sérum des animaux immunisés.

Hémoagglutinines. — Les filtrats hémolytiques sont en même temps agglutinants à l'égard des globules rouges de cobaye et de lapin.

ACTION PATHOGÈNE.

I. **Action pathogène chez l'homme**. — En pathologie humaine, le Vibrion septique est un des agents essentiels de la gangrène gazeuse, comme nous l'avons indiqué plus haut. Il prolifère abondamment dans les tissus atteints par le processus gangréneux, et passe parfois dans la circulation générale vers la fin de la maladie.

Son degré de fréquence est diversement apprécié : 28 p. 100 (Sacquépée), 13 p. 100 (Weinberg et Seguin) des cas.

II. **Action pathogène expérimentale**. — A part le rat d'égout, qui est presque réfractaire, tous les animaux sont réceptifs à l'action pathogène du Vibrion septique ; le cobaye et la souris sont les plus sensibles.

Mais, pour que l'infection soit obtenue, il faut que l'inoculation soit faite profondément sous la peau, dans les muscles, dans le péritoine, car le Vibrion septique est, avons-nous dit, anaérobie.

Les inoculations sous-cutanées ou intramusculaires peuvent être effectuées à l'aide de culture virulente, ou de sérosité d'animal

atteint, ou encore à l'aide de parcelles de terre contenant le Vibrion septique. Les lésions qu'on observe sont identiques dans tous les cas, et l'évolution de l'infection est la même chez la plupart des animaux. Chez le cobaye, voici ce qu'on observe :

Après inoculation intramusculaire (cuisse), il se forme en quelques heures un œdème mou, crépitant, rapidement envahissant. Puis l'animal demeure immobile. La mort survient très vite, parfois en six heures.

A l'autopsie : œdème hémorragique, occupant l'aine, tout ou

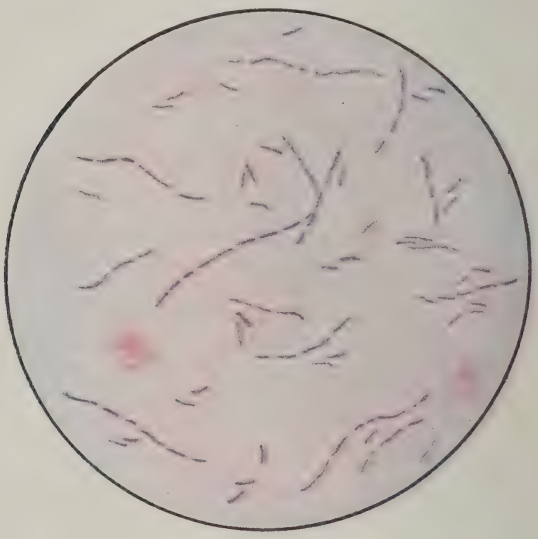


Fig. 253. — Vibrion septique dans la sérosité péritonéale de cobaye.

partie de la paroi abdominale, souvent l'aisselle ; bulles gazeuses très fines, parsemant l'œdème ; les muscles de la cuisse et de l'abdomen sont rouges. Dans l'abdomen : épanchement rosé ; foie décoloré ; taches nécrotiques du foie et des reins. Nicolle, César et Jouan signalent en outre, éventuellement, la rupture de l'estomac.

L'examen microscopique montre que les germes ont pullulé abondamment dans les muscles atteints et dans l'œdème. Des préparations par impression faites à la surface du foie permettent de constater que les bacilles y sont également très nombreux, se présentant généralement sous forme de longs filaments ou de longues

chaînettes (fig. 253). Cet aspect, très spécial, n'est toutefois pas constant, certains échantillons indiscutables de Vibrion septique ne donnant sur le péritoine que des formes bacillaires, sans filaments.

Dans le sang du cœur, les bacilles demeurent rares, décelables seulement par les cultures.

Pour les faire se multiplier, il suffit de placer le cadavre à l'étuve pendant quelques heures à 35°. Le cadavre ne tarde pas d'ailleurs à être envahi par la pullulation microbienne, qui s'effectue avec une rapidité surprenante.

D'après Chauveau, l'inoculation intraveineuse se montre moins sévère. Seules les doses élevées produisent des accidents toxiques mortels.

L'inoculation par les *voies digestives* reste négative.

Il en est de même, en général, de l'inoculation par les *voies respiratoires* ; le lapin cependant succombe à la suite de l'inoculation intratrachéale.

HABITAT NORMAL DU VIBRION SEPTIQUE.

Le Vibrion septique siège à l'état normal, à l'état de spores, dans le sol et dans l'eau. C'est dans le sol cultivé, la terre des jardins, qu'on le trouve en plus grande abondance. Dans la terre des forêts il est rare. Les spores que l'on rencontre dans l'eau proviennent du sol qui a été lavé.

Il est facile de les mettre en évidence en inoculant à l'animal des parcelles de terre, ou, comme l'a fait Pasteur, de l'eau de lavage de la terre en question.

On trouve encore les spores du Vibrion septique dans le contenu intestinal des animaux et même de l'homme. Leur présence est, à part quelques rares exceptions, sans influence fâcheuse pendant la vie, même quand l'intestin est atteint de lésions qui pourraient favoriser leur pénétration dans la circulation. Mais, après la mort, la pullulation est rapide et abondante ; les spores germent, et la partie mycélienne du Vibrion envahit la paroi intestinale pour se répandre peu à peu dans toutes les régions ; le Vibrion septique envahit le sang après sa désoxygénation.

INFECTION DANS LES CONDITIONS NATURELLES.

Pénétration du virus. — Le plus souvent la pénétration du virus s'effectue par la *voie cutanée*, à la faveur de traumatismes ou d'interventions chirurgicales.

Les instruments du chirurgien ou du vétérinaire, souillés spécifiquement, peuvent effectuer une véritable inoculation; elle survient à la suite de sétons creusés dans un tissu infecté par une aiguille ou une mèche de gaze souillées.

Facteurs favorisant l'infection. — Divers facteurs importants favorisent la pullulation microbienne :

Nature du traumatisme. — Nous avons vu que les plaies superficielles étaient peu aptes à favoriser l'infection septique à cause de leur exposition à l'air. En général, ce sont les plaies profondes, anfractueuses, accompagnées de contusion des tissus et renfermant des caillots sanguins, qui, souillées par un produit contenant des spores, comme la terre et le fumier, sont suivies de gangrène.

La mortification des tissus est un facteur très favorable : en effet, on cautérise la peau d'un lapin avec un agitateur chauffé au rouge; sous l'escarre produite, on injecte des spores sans toxine ; alors que, comme on le verra, les témoins résistent, les animaux ainsi traités succombent rapidement.

Associations microbiennes. — Quant on injecte profondément sous la peau une culture de Vibrions septiques sporulés, les spores sont injectées en même temps que la toxine; cette dernière éloigne les phagocytes par ses propriétés chimiotactiques négatives; la spore peut germer et la pullulation microbienne s'effectue.

Si, au contraire, on débarrasse les spores de leur toxine par un chauffage à 60°, les spores sont englobées par les phagocytes, et l'inoculation reste inoffensive. Cependant les spores ainsi dénuées de toxine peuvent germer si on injecte en même temps de l'acide lactique, qui éloigne les leucocytes, ou des parcelles de terre, dont les leucocytes s'emparent, laissant à la spore le temps d'opérer sa germination.

Besson a montré que certaines associations microbiennes jouaient ce même rôle favorisant : quand on injecte avec des spores sans toxine certains germes tels que le *Micrococcus prodigiosus*, le Staphylocoque doré, etc., ces derniers, doués de propriétés chimiotactiques positives, sont englobés par les phagocytes, qui négligent d'attaquer la spore septique et lui permettent de poursuivre son évolution.

Or, dans les conditions naturelles, la souillure accidentelle des plaies apporte, en même temps que la spore du Vibrion septique, des germes que conques, saprophytes souvent, qui peuvent ainsi favoriser l'éclosion de la gangrène gazeuse.

On ne saurait trop souligner ici l'analogie qui existe entre ces conditions étiologiques et celles qui favorisent l'évolution du tétanos chez l'homme et les animaux.

TOXINE.

Des désordres produits dans l'organisme par le Vibrion septique, les uns semblent dus au microbe lui-même, d'autres aux poisons qu'il sécrète ou excrète. Plusieurs auteurs ont étudié ces derniers.

I. — Roux et Chamberland ont filtré sur bougie de porcelaine de la sérosité musculaire d'animaux morts de l'infection septique expérimentale. Le liquide obtenu était doué d'une toxicité assez faible, puisqu'il en fallait 40 centimètres cubes introduits dans le péritoine du cobaye pour entraîner la mort de ce dernier.

II. — Besson a tout d'abord confirmé les résultats acquis par Roux et Chamberland, mais il a réussi à préparer un poison plus actif avec les cultures du Vibrion septique par un procédé dû à Roux :

On place 500 grammes de viande hachée et quelques centimètres cubes de solution de soude à 1 p. 100 dans un ballon de 1 500 centimètres cubes environ On porte à l'autoclave à 115° pendant vingt minutes. Puis on ensemence à l'aide de quelques gouttes de sérosité prélevée sur un cobaye rendu septicémique. On adapte alors au ballon un dispositif à faire le vide; on fait le vide et on porte à 37°.

Après un séjour de vingt heures, des bulles de gaz viennent crever à la surface du milieu, transformé en bouillie pâteuse; la viande présente une teinte rose. Au deuxième jour, on brise l'effilure du tube par où le vide a été fait, pour faire échapper les gaz dégagés par la culture, qui gêneraient ultérieurement cette dernière. La culture continue à se faire ensuite à l'abri de l'air, grâce à la production permanente de l'hydrogène et de l'acide carbonique.

Le ballon est retiré de l'étuve le sixième jour, moment où la toxicité a atteint son maximum. On décante la couche liquide. On lui ajoute le liquide provenant de la pression de la couche solide par une presse à viande. On filtre sur bougie Chamberland.

Le produit ainsi obtenu est assez toxique : inoculé dans le péritoine du cobaye de 300 à 400 grammes, à la dose de 5 à 10 centimètres cubes, il produit de la dyspnée, de l'arythmie, de la bradycardie, puis de l'hypothermie ; la mort survient rapidement : l'autopsie montre un intestin hyperémié, de teinte hortensia ; la cavité péritonéale contient quelques centimètres cubes de sérosité stérile.

L'activité de cette toxine diminue sous l'influence d'une température de 80° à 100°. Elle se conserve bien en vase clos, à l'abri de l'air et de la lumière. Besson a montré, en introduisant dans le péritoine de cobayes et de lapins de petits tubes capillaires remplis de toxine, les propriétés chimiotactiques négatives de cette dernière. Celles-ci disparaissent et deviennent même positives après un chauffage à 85° pendant deux heures.

III. — Leclainche et Morel ont préparé une toxine pure avec les cultures en bouillon Martin, qu'ils ont soin, non pas de filtrer, mais seulement de décanter. 5 centimètres cubes en injection intraveineuse font succomber le lapin ; en injection intracérébrale, il suffit de V à VI gouttes pour le tuer infailliblement.

IV. — Mlle A. Raphaël et V. Frasey obtiennent une toxine très active par le procédé suivant : les souches, conservées à la glacière, sont d'abord rajeunies par culture en bouillon Martin glucosé à 2 p. 1000, passées ensuite en bouillon Martin non sucré, ensemencées enfin en bouillon Martin glucosé à 2 p. 1000. Ces dernières cultures sont filtrées après vingt-quatre heures d'étuve. La toxine ainsi obtenue possède une action très forte et rapide : elle tue le lapin de 2 kilogrammes, par injection intraveineuse, en cinq minutes, à dose de 1 centimètre cube.

Jouan, à l'aide de cultures en bouillon Martin glucosé additionné de 1/5 de sérum de cheval; Weinberg et Seguin, cultivant en bouillon de bœuf glucosé à 2 p. 1000, préparé depuis plusieurs semaines; Sacquépée et de la Vergne, par cultures en bouillon ordinaire également glucosé à 2 p. 1000 ont obtenu des toxines d'une activité de même ordre.

IMMUNISATION. — SÉROTHÉRAPIE.

L'immunisation active des animaux a pu être obtenue par divers procédés :

Injection intraveineuse de cultures. — Chauveau et Arloing ont montré que l'injection intraveineuse de cultures, chez certaines espèces animales, l'âne en particulier, conférait l'immunité. Un âne ainsi traité peut recevoir impunément 0^{cc},5 à 1 centimètre cube sous la peau, sans présenter d'autre accident qu'un abcès au point injecté, où fourmillent les Vibrions septiques.

Virus affaiblis. — Cornevin a vacciné des chiens et des poules par injection sous-cutanée ou péritonéale de cultures atténuées par la coumarine et l'acide gallique. Les résultats sont peu probants, car ces animaux sont relativement peu sensibles.

Vaccination par la toxine. — Roux et Chamberland, en 1887, tentèrent de vacciner par injection de cultures stérilisées par chauffage à 105-110° pendant dix minutes ; ils ont employé de même la sérosité musculaire filtrée. Ils en introduisaient 30 à 40 centimètres cubes dans le péritoine pendant trois jours consécutifs. Les cobayes ainsi vaccinés résistaient à l'inoculation virulente, tuant les témoins en dix-huit à vingt heures.

Sérothérapie. — Elle fut tentée en 1898 par Leclainche avec le sérum d'âne immunisé par injection intraveineuse de sérosité septique. Son étude fut poursuivie en 1901 par Leclainche et Morel.

Des chevaux ou des ânes reçoivent dans les veines, à doses progressives, des cultures en bouillon Martin âgées de cinq à dix jours. Leur sérum possède des propriétés préventives manifestes : inoculé au cobaye (1 à 4 centimètres cubes sous la peau ou dans le péritoine) vingt-quatre heures avant une dose de virus sûrement mortelle, il protège l'animal. Chez le cobaye, l'injection simultanée de sérum et de virus n'empêche nullement l'évolution de l'infection.

Chez le lapin qui est naturellement plus résistant, aux propriétés préventives s'ajoutent les propriétés curatives, car, injecté peu après le virus, le sérum arrête l'éclosion des accidents septiques.

Ce sérum est agglutinant, antimicrobien et antitoxique.

Par la même technique, inoculation intraveineuse de cultures vivantes, Leclainche et Vallée préparent un sérum polyvalent, actif à la fois contre le Vibrion septique et le *Bac. perfringens*.

H. Vincent et Stodel préparent un sérum polyvalent suivant une technique particulière : Voy. *Bac. perfringens*, *Sérothérapie*.

Mlle A. Raphaël et V. Frasey inoculent au cheval leur toxine, à doses progressivement croissantes, sous la peau. Localement il se produit un œdème limité et fugace ; pas de réaction générale. L'immunisation est suffisante après huit semaines. Le sérum obtenu se montre doué de propriétés anti-infectieuses, et antitoxiques, c'est à-dire qu'il peut empêcher les effets soit de la culture totale, soit de la toxine. Ainsi, lorsqu'à la dose de toxine qui tue le lapin en cinq minutes par voie veineuse, on mélange 1/1000 de centimètre cube de sérum, le mélange se montre inoffensif.

Jouan; Weinberg et Seguin ont également préparé des sérums par inoculation de toxine; les sérums obtenus sont comparables au précédent.

Au cours des gangrènes gazeuses humaines, ces divers sérums ont été utilisés avec des résultats thérapeutiques certains, tant à titre préventif qu'à titre curatif.

CHAPITRE XLVI

BACILLUS PERFRINGENS

Veillon et Zuber (1898) ont donné ce nom, actuellement usuel en France, à un bacille déjà décrit antérieurement par Welch et Nuttal (1892) sous le nom de *Bacillus aerogenes capsulatus* et par Eug. Fraenkel (1893) sous le nom de *Bac. phlegmonis emphysematosæ*. Certains auteurs l'appellent *Bacillus Welchii*.

Le *Bac. perfringens* est un agent pathogène fréquemment rencontré dans les infections gazeuses de toutes origines, spécialement à la suite des plaies de guerre.

MORPHOLOGIE.

Le *Bac. perfringens* est un bacille, le plus souvent épais, trapu ;

Fig. 254. — *Bac. perfringens* (culture en bouillon de 24 heures).

ses extrémités sont carrées ou à peine émoussées ; les éléments se montrent habituellement droits, rarement incurvés ; ils sont généralement isolés, parfois en diplobacilles (fig. 254).

Immobile; ne possède pas de cils.

Le *Bac. perfringens* est sporulé, mais les spores sont rares dans les milieux artificiels. Elles sont ovalaires.

Se colore facilement par les couleurs d'aniline et *prend le Gram.*

CARACTÈRES DE CULTURES.

Le *Bac. perfringens* est un anaérobie strict. Les cultures s'obtiennent très facilement, à condition bien entendu d'utiliser les dispositifs spéciaux pour anaérobies.

Bouillon. — En *bouillon ordinaire*, la culture est d'ordinaire franchement développée après douze à quatorze heures, sous forme de trouble homogène intense, avec dégagement gazeux et odeur aigrelette. Le trouble se maintient pendant plusieurs jours, puis le liquide s'éclaircit et il se forme un dépôt.

En *bouillon glucosé*, mêmes caractères, mais la culture est plus abondante encore et le dégagement gazeux très intense.

Lait. — En vingt-quatre heures, le lait est coagulé en masse, le caillot se rétracte et prend l'apparence d'une éponge, apparaissant creusé de nombreuses logettes; le sérum exsudé est clair. Cet aspect de la culture en lait est bien spécial.

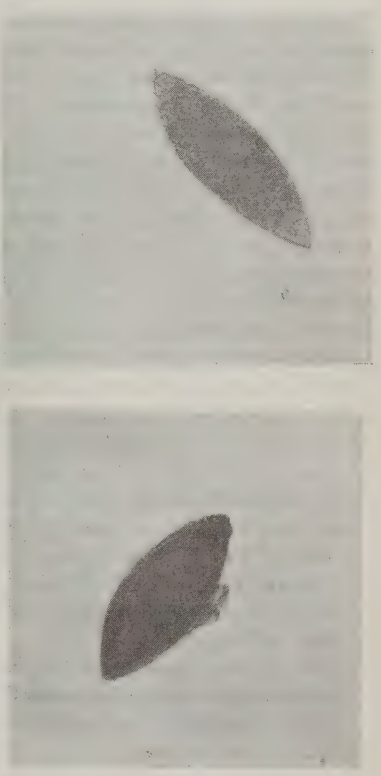


Fig. 255. — *Bac. perfringens*, colonie en gélose glucosée profonde, grossie 25 fois.

Gélose glucosée profonde (gélose de Veillon). — Les colonies isolées poussent facilement; elles ont l'aspect de lentilles biconvexes, à bords nets; parfois on constate de petites

protubérances en quelque point de la surface (fig. 255). Le dégagement gazeux est très marqué. Contrairement à ce qu'on a parfois avancé, l'aspect lenticulaire n'est pas spécial au *B. perfringens ;* il se rencontre également dans les cultures d'autres espèces.

Gélatine glucosée. — Colonies lenticulaires, liquéfiant lentement et partiellement.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Les formes sporulées, très résistantes, survivent plusieurs mois à la température ambiante.

Propriétés fermentatives. — Le *Bac. perfringens* attaque la plupart des sucres avec beaucoup d'énergie, en produisant des gaz et en acidifiant le milieu. Il attaque en particulier la glucose, la lévulose, la maltose, la galactose, la lactose, etc.

Simonds a basé sur la fermentation ou la non-fermentation de l'inuline et de la glycérine une classification en quatre groupes.

Action sur le blanc d'œuf cuit. — Dans les cultures en bouillon additionné de cubes de blanc d'œuf cuit, le cube de blanc d'œuf n'est pas attaqué.

Action des sérums. — P. Simonds, Weinberg et Seguin ont obtenu des sérums agglutinant l'échantillon employé pour l'immunisation, mais d'activité variable sur les autres échantillons.

ACTION PATHOGÈNE.

I. **Action pathogène chez l'homme.** — Chez l'homme, le *Bac. perfringens* est un des agents pathogènes de la gangrène gazeuse (Voy. chap. XLV) et des processus putrides.

Il se rencontre en outre fréquemment dans les plaies, spécialement dans les plaies de guerre, même lorsqu'il n'existe pas d'infection anaérobie appréciable.

Il passe parfois dans la circulation générale et détermine des septicémies, spécialement à la suite des gangrènes gazeuses.

Il est enfin l'un des agents habituels des infections puerpérales, localisées ou généralisées.

II. **Action pathogène expérimentale.** — La *virulence* du *B. perfringens* est très variable. Nombre d'échantillons sont complètement avirulents. D'autres au contraire, spécialement parmi ceux qui proviennent des gangrènes gazeuses, possèdent un pouvoir pathogène très élevé.

Les souches pathogènes se montrent actives surtout à l'égard du

cobaye, beaucoup moins chez le lapin et la souris. D'après C. Bull et I. Pritchett, le pigeon est plus sensible encore que le cobaye.

Les lésions caractéristiques sont produites par inoculation intramusculaire.

Cobaye. — Par *inoculation intra musculaire* (cuisse), des échantillons virulents tuent le cobaye en douze heures à quelques jours, à dose de un dixième à un demi-centimètre cube de bouillon de vingt-quatre heures.

Pendant la vie, on observe d'abord une tuméfaction localisée de la patte avec crépitation gazeuse. Puis la tuméfaction s'étend à distance, envahit la paroi abdominale et les flancs, donnant la sensation d'une vaste poche fluctuante remplie de gaz et de liquides. Les téguments sont souvent violacés ; on peut observer de la chute des poils. Il apparaît parfois des phlyctènes.

A l'autopsie, on constate qu'il s'est formé au point d'inoculation une poche gazeuse ; les muscles de la cuisse ont fondu en partie, la plupart sont dissociés, s'effritent et s'écrasent. Au niveau de l'abdomen, il existe une vaste poche gazeuse, renfermant une quantité appréciable de liquide sanieux, putride, où baignent des débris sphacélés de muscles et de tissus divers. A la surface de ce liquide nagent des gouttelettes huileuses. A la limite de ces lésions, vers l'aisselle, il existe souvent un œdème rouge.

Le germe se généralise. Il pullule abondamment dans tous les tissus atteints, on le retrouve en quantité dans les organes, le sang du cœur, à la surface du péritoine.

Par *inoculation sous-cutanée*, il se forme de même tout d'abord de l'œdème crépitant avec teinte violacée ou verdâtre de la peau, puis les téguments se décollent ; il apparaît une vaste poche renfermant un liquide trouble, rouge sale. Quand l'animal guérit, la poche s'affaisse, et il se produit une escarre qui brunit et se dessèche (Mlle Raphaël).

Lapin. — Inoculé avec les mêmes doses que le cobaye, le lapin ne présente habituellement que de l'œdème local, qui peut être accompagné d'une escarre et de crépitation gazeuse.

Pigeon. — D'après Bull et Pritchett, 0,05 à 0,01 centimètre cube de culture, inoculé dans les muscles pectoraux, tue le pigeon en six à vingt heures. Lésions anologues à celles constatées chez le cobaye.

TOXINE.

Jusqu'ici, on n'a pas réussi à obtenir une toxine soluble très active. En filtrant sur bougie des cultures jeunes en bouillon glucosé,

Weinberg et Seguin ont obtenu un filtrat qui tue le cobaye à dose de 0,5 à 1 centimètre cube dans les veines, et qui détermine par injection sous-cutanée, à dose de 2 à 5 centimètres cubes, l'apparition d'œdème.

Par un procédé analogue, Sacquépée et de la Vergne ont obtenu des filtrats qui tuent le cobaye à dose de 0,5 à 1 centimètre cube, par injection intramusculaire.

Les toxines préparées par Bull et Pritchett semblent plus actives. Les cultures sont faites en bouillon glucosé à 2 ou 3 p. 1000, et additionné de muscle frais stérile (non chauffé). Après dix-huit à vingt-quatre heures d'étuve, elles sont centrifugées. Le liquide centrifugé se montre toxique à dose de 0,3 à 3 centimètres cubes pour le pigeon, par inoculation intramusculaire : il provoque de l'œdème, de l'hémolyse, de la destruction des tissus.

Par un procédé très voisin, de Kruif, Adams et Ireland ont pu préparer une toxine qui tue le cobaye à dose de 0,1 à 2 centimètres cubes (inoculation intramusculaire).

SÉROTHÉRAPIE.

On a préparé des sérums actifs contre le *B. perfringens* par divers procédés.

Klose, Weinberg et Seguin inoculent au cheval soit la toxine, soit des cultures microbiennes. Les sérums obtenus se montrent préventifs et antitoxiques.

Bull et Pritchett immunisent les animaux par inoculation de toxine. Ils obtiennent un sérum doué de propriétés préventives antitoxiques et curatives.

Leclainche et Vallée appliquent la même méthode de préparation que pour le Vibrion septique : inoculation de cultures vivantes dans les veines. Le sérum de Leclainche et Vallée est préparé à la fois contre le *Bac. perfringens* et le Vibrion septique. Il se montre préventif expérimentalement.

H. Vincent et Stodel s'adressent à différentes espèces pathogènes de la gangrène : *B. perfringens*, Vibrion septique, *B. bellonensis*, *B. œdematiens*, etc. Ces germes sont cultivés sur gélose, puis la culture est émulsionnée dans l'eau physiologique et abandonnée pendant deux à quatre jours à 38°. Les macérations microbiennes ainsi obtenues sont inoculées au cheval. Le sérum ainsi préparé se montre préventif expérimentalement à l'égard du *Bac. perfringens*.

Ces différents sérums ont été appliqués avec succès au traitement de la gangrène gazeuse humaine.

BACILLE DU RHUMATISME ARTICULAIRE AIGU.

Achalme (1891) a signalé, dans certains cas mortels de rhumatisme articulaire aigu, l'existence dans le sang et les organes d'un Bacille anaérobie. Le même microbe a été parfois rencontré ensuite dans la même maladie, pendant la vie ou après la mort (Triboulet, Thiroloix et Rosenthal, Pic et Lesieur), mais les observations de cet ordre paraissent assez exceptionnelles, malgré le nombre considérable de recherches pratiquées depuis lors.

Le Bacille d'Achalme ressemble tellement au *B. perfringens* que la presque unanimité des auteurs identifient les deux microbes.

Cependant Thiroloix et Rosenthal signalent entre leur « variété banale » et leur « variété rhumatismale » du Bacille d'Achalme, c'est-à-dire entre le *Bacillus perfringens* et le Bacille décrit par Achalme, certaines différences de détail : la « variété rhumatismale » donne des cultures dénuées d'odeur fétide ; elle pousse mal à la température ambiante et ne liquéfie que lentement la gélatine ; elle n'attaque que peu et lentement le blanc d'œuf cuit. Les autres caractères essentiels (morphologie, cultures, action pathogène) sont communs avec le *Bacillus perfringens*.

Thiroloix et Saiget ont reproduit une fois une maladie d'allures rhumatismales par inoculation au porcelet.

Pour le moment, la signification exacte du Bacille d'Achalme au regard de l'infection rhumatismale est tout à fait imprécise.

CHAPITRE XLVII

BACILLUS BELLONENSIS ET BACILLUS ŒDEMATIENS

En mai 1915, l'un de nous (Sacquépée) décrivait un nouveau germe anaérobie, qu'il considérait dès lors comme un des agents les plus importants et les plus répandus de la gangrène gazeuse. Ce microbe reçut ultérieurement le nom de *Bacillus bellonensis*.

Quelques jours après cette communication initiale, Weinberg et Seguin décrivaient de leur côté un microbe rencontré également dans la gangrène gazeuse, et auquel ils appliquèrent plus tard le nom de *Bacillus œdematiens*.

Le *Bacillus bellonensis* et le *Bacillus œdematiens* sont au moins très voisins l'un de l'autre ; mais leur degré de parenté n'étant pas actuellement établi, nous décrirons successivement l'un et l'autre.

BACILLUS BELLONENSIS

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le *Bacillus bellonensis* est un bacille, peu ou pas mobile, de morphologie variable.

En cultures liquides, après dix-huit à vingt-quatre heures, on trouve des formes courtes, des formes longues, et de véritables filaments. La longueur oscille en moyenne de 3 à 10 μ; l'épaisseur est de 0, 8 à 1 μ. Les extrémités sont émoussées ou arrondies. Certains bacilles sont rectilignes, d'autres sont sinueux ou incurvés en canne, en S, etc. Le plus souvent isolés, ou par diplobacilles, les éléments se montrent parfois disposés en chaînettes, plus rarement en petits amas, ou dessinent de fausses ramifications. Pour chaque échantillon, l'une ou l'autre disposition est prédominante.

Dans les produits pathologiques, le polymorphisme est moindre. Il existe surtout des bacilles de longueur moyenne, isolés ou en diplobacilles, rarement en courtes chaînettes (fig. 256).

Mobilité. — En cultures, pas de mobilité appréciable. Dans les

sérosités provenant d'animaux inoculés, quelques échantillons

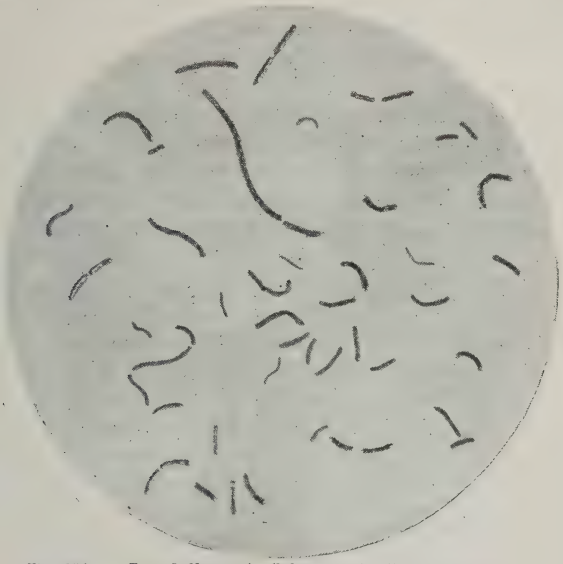


Fig. 256. — *Bac. bellonensis.* Culture en bouillon de 24 heures.

présentent un certain degré de mobilité, mais très éphémère (quelques secondes). La plupart des échantillons sont immobiles.

Coloration. — En cultures jeunes, de même que dans les produits pathologiques, le *Bacillus bellonensis* se colore facilement par les couleurs d'aniline.

Dans les cultures âgées (après trois jours), beaucoup d'éléments se colorent mal; d'autres ne prennent la coloration que d'une manière inégale.

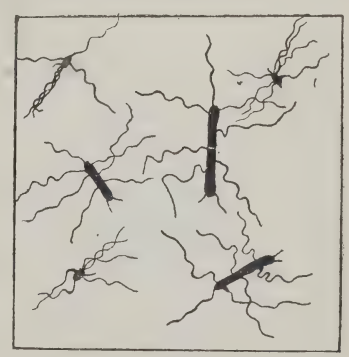


Fig. 257. — *Bac. bellonensis.* Cils.

Le *Bacillus bellonensis prend le Gram*, dans les cultures jeunes et dans l'organisme, à condition de prolonger l'action des réactifs.

Cils. — Le *Bacillus bellonensis* est pourvu de cils (fig. 257), insérés sur tout le pourtour du corps bacillaire, en nombre variable, 4 à 20 et plus ; le plus souvent simples, parfois anastomosés ou bifurqués ; longs ou très longs. Les cils se colorent par les procédés spéciaux habituels.

Spores. — Le *Bacillus bellonensis* est sporulé. Les spores sont le plus souvent oblongues, parfois ovalaires ; le plus souvent subterminales. On les trouve facilement dans les tissus ou produits pathologiques. Elles se forment également dans les milieux de culture. La spore est colorable par les procédés spéciaux.

CARACTÈRES DE CULTURES.

Le *Bacillus bellonensis* est un anaérobie strict. La température optima de développement est 37°. Les milieux d'usage courant suffisent pour la culture, en ayant soin, bien entendu, de les adapter à l'anaérobiose.

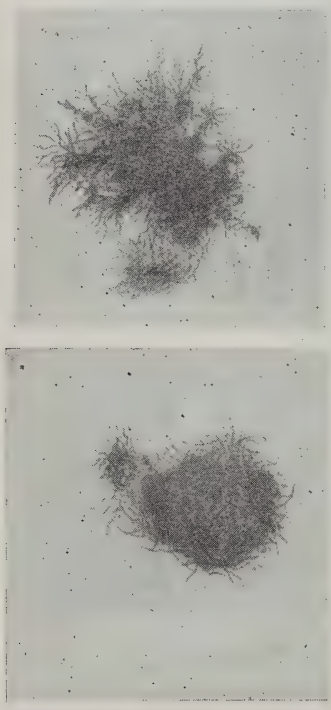


Fig. 258. — *Bacillus bellonensis*. Colonies isolées en gélose glucosée profonde, grossies 25 fois.

Bouillon. — En *bouillon ordinaire*, il apparaît d'abord un trouble homogène en douze à vingt heures; puis se forment des flocons, qui restent quelque temps en suspension ; après trente-six à quarante-huit heures, le liquide s'éclaircit, en même temps que les flocons se déposent au fond du tube. Il existe en même temps un léger dégagement gazeux. La culture dégage une odeur putride un peu fade, spéciale.

En *bouillon glucosé* ou *maltosé*, mêmes caractères généraux, mais le trouble est souvent plus intense et plus persistant.

Lait. — Coagulé en trois à huit jours.

Gélose glucosée profonde (gélose de Veillon). — Les colonies

isolées, déjà visibles après vingt-quatre heures, sont pleinement développées après deux jours : vues à la loupe, elles se composent d'un centre opaque, jaune brunâtre, entouré d'une auréole plus claire, à bords irréguliers. Au microscope, cette auréole périphérique se montre formée de filaments (fig. 258).

Ultérieurement, les colonies s'étalent un peu, se disloquent, et finalement se résorbent peu à peu.

Gélatine glucosée. — En gélatine glucosée à 1,5 p. 100, à 15° ou 17°, les colonies isolées sont développées en dix à vingt jours, sous forme de masse ovoïdes ou arrondies, blanchâtres, filamenteuses. Le milieu est ramolli ou liquéfié tardivement (après quatre semaines).

Pomme de terre. — Après quelques jours, apparition d'un enduit à peine visible, luisant, glacé.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Les formes sporulées sont très résistantes.

A la température ambiante, les spores se maintiennent pendant plusieurs années.

L'ébullition, prolongée pendant une heure, détruit toutes les spores.

Propriétés fermentatives. — Le *Bacillus bellonensis* attaque très énergiquement la glucose et la maltose, encore énergiquement la lévulose. Son action paraît faible sur la lactose, la mannite et la dulcite. Elle n'est pas appréciable en présence de la glycérine et de la saccharose.

Action sur le blanc d'œuf cuit. — Dans les cultures en bouillon additionné de cubes de blanc d'œuf cuit (Voy. p. 181), le cube de blanc d'œuf n'est pas attaqué, même après plusieurs mois.

Action des sérums. — Les sérums expérimentaux, préparés par inoculation d'un échantillon de *Bacillus bellonensis*, renferment une *agglutinine* active exclusivement sur l'échantillon homologue.

Les mêmes sérums renferment une *sensibilisatrice* spécifique, active sur tous les échantillons de l'espèce, et sans action sur les espèces plus ou moins voisines.

ACTION PATHOGÈNE.

I. **Chez l'homme**, le *Bacillus bellonensis* se rencontre dans beaucoup de cas de gangrène gazeuse (Voy. chap. XLV). Généralement

limité aux lésions locales, il ne passe dans la circulation générale que d'une manière exceptionnelle.

II. **Expérimentalement**, le *Bacillus bellonensis* se montre virulent pour le cobaye, le lapin, la souris. Le cobaye et le lapin sont tout particulièrement réceptifs.

Les lésions constatées se rapportent à deux types qui diffèrent l'un de l'autre par quelques détails.

Le *premier type* est surtout *œdématogène* ; c'est le plus fréquent ;

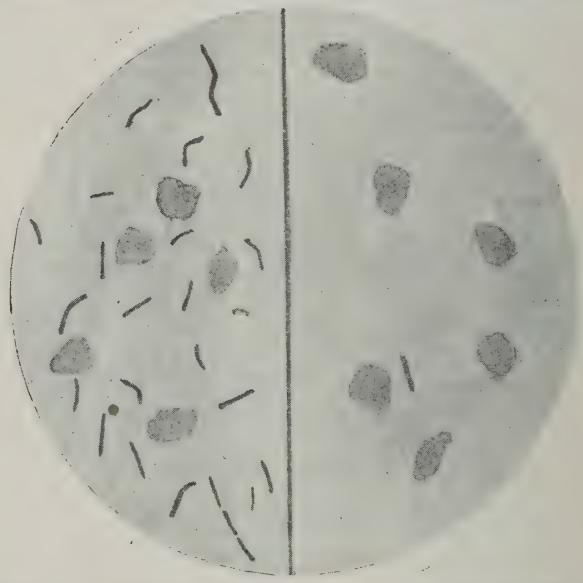


Fig. 259. — *Bac. bellonensis*. Sérosité de cobaye inoculé. A gauche, type infectieux ; à droite, type œdématogène.

il appartient surtout aux échantillons très toxiques. Après inoculation intramusculaire dans la cuisse du cobaye, de 1 centimètre cube de bouillon vingt-quatre heures, il apparaît en six à huit heures une tuméfaction en masse de la patte, puis l'œdème dur gagne la paroi abdominale, la patte se refroidit ; mort en douze à vingt-quatre heures. A l'autopsie, on note un œdème très étendu, couvrant comme un bouclier les deux aines, la paroi abdominale, les flancs, la base du thorax ; cet œdème est incolore ou à peine teinté. L'infiltration gazeuse, de même que les altérations musculaires, sont discrètes ou font défaut. Les germes sont peu abondants, même au point d'inoculation (fig. 259).

Avec le *deuxième type*, qui se montre surtout *infectieux*, dans les

mêmes conditions d'inoculation que ci-dessus, on constate pendant la vie de l'œdème, et parfois de la crépitation gazeuse. A l'autopsie, l'œdème, toujours abondant, est plus teinté, rose ou rouge ; il existe de l'infiltration gazeuse et des lésions musculaires : les muscles voisins du point inoculé sont tuméfiés, de teinte rouge livide ou brunâtre, leur consistance est diminuée. Les bacilles se sont multipliés, on les retrouve facilement dans les tissus atteints, de même que sur le péritoine (fig. 259).

TOXINE.

En culture, le *Bacillus bellonensis* sécrète une toxine très active.

On l'obtient très facilement par les procédés habituels : des cultures en bouillon ordinaire ou en bouillon glucosé sont filtrées après un temps déterminé d'incubation à 37° ; les filtrats obtenus, inoculés aux animaux, se montrent toxiques.

On constate ainsi que la toxine, déjà apparue après vingt-quatre heures, est beaucoup plus abondante après le deuxième jour ; elle persiste ensuite à peu près stationnaire jusqu'au sixième jour ; dans la suite, le pouvoir toxique diminue.

Cette toxine, inoculée au *cobaye* (*sous la peau* ou *dans les muscles*), tue à dose variable ; la dose minima mortelle peut ne pas dépasser 1/500e de centimètre cube. L'animal succombe en un temps assez long, six à neuf heures au moins. A l'autopsie, on constate un œdème très étendu, incolore, tremblotant, sans autre altération appréciable.

Par inoculation *intraveineuse* au *lapin*, la toxine se montre également très active. Une bonne toxine tue en seize à vingt-quatre heures un animal de 1 600 grammes.

Des doses fortes peuvent tuer en une heure quinze à une heure trente, mais guère moins ; l'action est donc relativement lente.

IMMUNITÉ. — SÉROTHÉRAPIE.

Immunisation active. — On peut facilement immuniser les animaux par *inoculation de toxine*.

On inocule au lapin ou au cobaye une dose de toxine inférieure à la dose minima mortelle, mais néanmoins susceptible de déterminer de l'œdème. Une fois l'animal rétabli, on injecte une dose un peu supérieure ; et ainsi de suite. Après trois ou quatre inoculations, on constate que l'animal est immunisé, non seulement contre la toxine, mais encore contre le microbe vivant.

Sérothérapie. — On obtient sans difficulté un sérum thérapeutique très actif.

Les inoculations sont faites chez le cheval à doses progressives avec des cultures de quatre jours, filtrées : d'abord sous la peau, plus tard dans les veines.

Expérimentalement, le sérum ainsi obtenu est à la fois antitoxique et anti-infectieux, c'est-à-dire qu'il se montre actif à l'égard de la toxine comme à l'égard des cultures vivantes.

Il est préventif et curatif.

Son degré d'activité peut être apprécié par le titrage du pouvoir antitoxique : 1 centimètre cube de sérum peut neutraliser soixante-dix mille à cent vingt mille doses mortelles de toxine, ce qui représente un titre de 700 à 1200 unités antitoxiques.

Ce sérum a été appliqué avec succès au traitement préventif et curatif de la gangrène gazeuse humaine.

BACILLUS ŒDEMATIENS

MORPHOLOGIE.

Le *Bacillus œdematiens* est un bacille de 4μ,5 à 10 μ, exceptionnellement plus court, à bouts arrondis.

Dans les cultures de vingt-quatre heures en bouillon glucosé, le type le plus commun est constitué par des bacilles légèrement incurvés en C ou en S, souvent groupés par deux. Les formes droites sont relativement rares.

Dans les sérosités de l'homme et des animaux, on trouve le plus souvent des bacilles droits ou légèrement incurvés.

Il possède un très grand nombre de cils.

Immobile dans les conditions ordinaires d'examen.

Les spores, ovalaires, sont très nombreuses dans les cultures de quatre à six jours.

Le bacille *prend le Gram.*

CULTURES.

Anaérobie strict. Les cultures sont difficiles à obtenir.

Bouillon Martin glucosé à 2 p. 1000. — En quelques heures apparaît un trouble d'abord léger, puis le trouble s'accentue ; très rapidement les microbes auto-agglutinent et forment un dépôt au fond du tube. La culture s'éclaircit en quarante-huit heures.

Odeur *sui generis*. Les cultures s'accompagnent d'un dégagement gazeux.

Gélose profonde nitratée. — Le plus souvent, les colonies jaunes ont un centre opaque, jaunâtre, irrégulier, entouré d'une fine couronne de filaments courts et inégaux que l'on observe aisément à la loupe et au microscope. Puis la colonie s'éclaircit, le centre devient nuageux, et en quarante-huit heures, on observe à sa périphérie une large couronne de filaments enchevêtrés.

Gélatine glucosée. — En gélatine à 2 p. 1000, colonies nuageuses, pas de liquéfaction.

Au contraire, en gélatine glucosée à 2 p. 100, le milieu est liquéfié.

Lait tournesolé. — Vire au rouge avec abondant dégagement de gaz ; puis coagule en cinq jours à un mois et plus.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Propriétés fermentatives. — Etudié en gélose profonde tournesolée préparée avec différents sucres, le *Bacillus œdematiens* donne des gaz et acidifie dans presque tous les tubes ensemencés. En règle générale, ce sont les milieux à la galactose, maltose, glucose et dulcite, dans lesquels il se forme le plus de gaz ; dans les autres milieux sucrés, saccharose, lévulose, la réaction est plus faible et moins constante.

Action sur le blanc d'œuf cuit. — Le blanc d'œuf n'est pas attaqué.

ACTION PATHOGÈNE.

I. **Chez l'homme**, le *Bacillus œdematiens* est un des agents de la gangrène gazeuse.

II. **Expérimentalement**, les échantillons actifs tuent le cobaye, le lapin, la souris, le rat blanc. L'inoculation intramusculaire, chez le *cobaye*, révèle l'existence de deux types : un *type toxique* et un *type virulent*.

Après inoculation d'un *germe toxigène* dans la cuisse, on constate à l'autopsie que la paroi abdominale est envahie par un œdème gélatineux, blanc ou blanc rosé, lardacé, non infiltré de gaz. Près des muscles, l'œdème est rose, parfois hémorragique. Les muscles œdématiés sont hyperémiés et infiltrés de bulles gazeuses. Les microbes, très rares dans la sérosité musculaire, ne se généralisent pas.

Un échantillon *virulent* détermine un œdème gélatineux rosé, parfois rouge-groseille, infiltré de nombreuses bulles de gaz ; l'œdème périmusculaire est hémorragique ; les muscles sont fortement hyperémiés, rouge violacé, crépitants, infiltrés de bulles de gaz. Les bacilles pullulent dans la sérosité musculaire ; ils se retrouvent sur l'exsudat péritonéal.

TOXINE.

Les cultures en bouillon Martin non sucré, filtrées après six à dix jours de culture, sont toxiques.

La toxine est détruite par chauffage à 50° pendant trente minutes.

Par inoculation sous-cutanée chez le *cobaye*, la toxine tue à doses variables, jusqu'à 1/100 de centimètre cube. Elle produit un œdème gélatineux, blanc, progressif, non infiltré de gaz.

Les doses plus faibles, non mortelles, déterminent la formation d'un œdème local ; après vingt-quatre heures, il existe à la surface de la peau des taches hémorragiques superficielles ; puis l'œdème se résorbe. Souvent il se forme une petite escarre.

SÉROTHÉRAPIE.

On immunise facilement le cheval, à condition de commencer par des doses très faibles de toxine.

Le sérum ainsi obtenu possède des propriétés antitoxiques et préventives.

Le pouvoir antitoxique est estimé à 250 unités pour le cobaye, et 1 000 unités pour la souris.

Le sérum est en même temps préventif, à la fois contre la toxine et contre la culture totale.

Il a été appliqué avec succès à la sérothérapie préventive et curative de la gangrène gazeuse humaine.

CHAPITRE XLVIII

AUTRES BACTÉRIES ANAÉROBIES RENCONTRÉES DANS LA GANGRÈNE GAZEUSE

BACILLUS SPOROGENES.

Ce bacille, décrit par Metchnikoff, a été souvent rencontré dans la gangrène gazeuse humaine, 21 p. 100 des cas, d'après les observa-

Fig. 260. — *Bac. sporogenes.* Culture en bouillon. A gauche, après 48 heures; à droite, après 4 jours.

tions de l'un de nous. Son rôle paraît y être assez peu important. Dans les formes graves de gangrène, on trouve toujours d'autres microbes plus virulents. Le *B. sporogenes* se rencontre d'ailleurs aussi dans les infections gazeuses bénignes des plaies, et dans bon

nombre de plaies non infectées. A l'état normal, il se rencontre assez souvent dans l'intestin humain.

Bacille présentant la forme et les dimensions du Vibrion septique, mobile, cilié, prenant le Gram, sporulé. Les spores, ovalaires, sont le plus souvent subterminales ; leur extrémité distale demeure habituellement capuchonnée d'un fragment du corps bacillaire, un peu effilé en éperon à son extrémité libre. Cet aspect, sans être spécifique, est bien particulier. Les spores sont très abondantes (d'où le

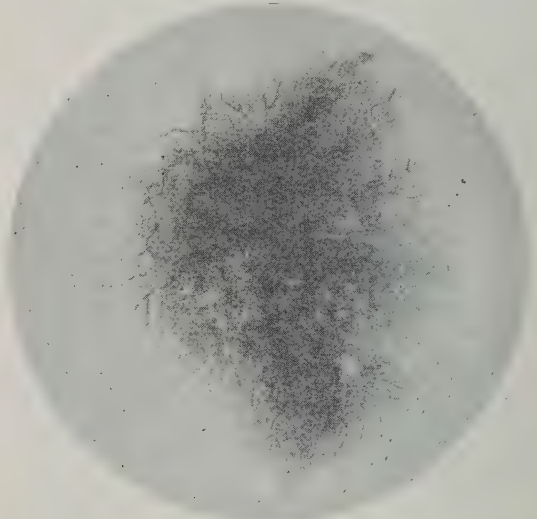


Fig. 261. — *Bac. sporogenes.* — Colonie isolée en gélose glucosée profonde, grossie 25 fois.

nom de l'espèce) déjà après vingt-quatre heures en cultures ; les jours suivants elles se libèrent du corps bacillaire et les préparations ne montrent plus guère que des spores libres (fig. 260).

Développement très facile et exubérant, exclusivement en anaérobiose.

En bouillon ordinaire ou glucosé, trouble uniforme avec dégagement gazeux et odeur putride.

Le lait, coagulé en petits grumeaux ou non, est en tous cas rapidement éclairci par digestion de la caséine.

En gélose Veillon, colonies très grosses, formées d'un centre opaque blanchâtre, neigeux, avec couronne de filaments périphériques (fig. 261).

Liquéfie la gélatine très rapidement (un ou quelques jours).

En bouillon additionné de blanc d'œuf cuit, le cube de blanc d'œuf est rapidement digéré (un à quelques jours).

Attaque la glucose, la lévulose, la galactose, la maltose (Berthelot).

Le *B. sporogenes* est habituellement avirulent ; douze échantillons, provenant de gangrène, et inoculés par l'un de nous, n'ont déterminé aucune lésion grave, à la condition qu'il n'existe aucun autre germe surajouté. MM. Weinberg et Seguin attribuent à certaines variétés de *B. sporogenes* des propriétés pathogènes pour le cobaye : par inoculation intramusculaire, infection mortelle; destruction et liquéfaction des muscles, odeur infecte, formation d'une énorme poche de gaz; à distance, œdème rouge, séreux. Les souches virulentes ont donné une toxine d'activité faible.

BACILLUS PUTRIFICUS.

Le *B. putrificus* (Bienstock) est avant tout un microbe de la putréfaction. Il possède la propriété de digérer le blanc d'œuf, la fibrine, la viande; il saponifie la graisse.

C'est un bacille droit, morphologiquement très voisin du Bacille du tétanos (fig. 262) ; il présente en effet, comme ce dernier, des

Fig. 262. — *Bacillus putrificus.*

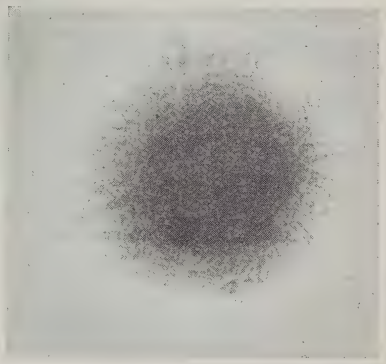


Fig. 263. — *Bacillus putrificus.* Colonie isolée en gélose glucosée profonde, grossie 25 fois.

spores arrondies terminales, de telle sorte que le Bacille sporulé prend l'aspect de baguette de tambour (*B. pseudo-tétanique* de Tavel).

Très mobile, le *B. putrificus* prend le Gram.

En gélose, en quarante-huit heures, les colonies sont formées d'un noyau central entouré de filaments très nombreux (fig. 263). En gélatine, les colonies ont un aspect chevelu; le milieu est liquéfié. Toutes les cultures dégagent une odeur putride.

Non pathogène pour l'animal.

Le *B. putrificus* a été rencontré très souvent dans les plaies de guerre; il fait souvent partie de la flore des gangrènes gazeuses, mais ne semble pas susceptible de les provoquer à lui seul.

BACILLUS FALLAX.

Cette espèce a été décrite par MM. Weinberg et Seguin, comme un des agents de la gangrène gazeuse.

C'est un bacille anaérobie, présentant les dimensions du Vibrion septique, mobile, cilié, capsulé, pas ou peu sporulé, prenant le Gram.

Cultures : en bouillon Martin glucosé, culture abondante, trouble, avec dégagement gazeux et odeur aigrelette.

En gélose de Veillon, après quarante-huit heures : colonies en forme de cœur jaune, avec un bourgeon latéral.

Ne liquéfie pas la gélatine.

En lait tournesolé : décoloration et coagulation.

Ne digère pas le blanc d'œuf cuit.

Pathogène pour le cobaye. Après inoculation sous-cutanée (abdomen), il se produit un vaste phlegmon gazeux; décollement de la peau, vaste poche de gaz. Œdème rouge séreux. Le germe est très abondant dans les lésions et sur le péritoine.

Sécrète une toxine peu active.

BACILLUS AEROFŒTIDUS.

Décrit par MM. Weinberg et Seguin comme un des agents des infections gazeuses.

Bacille anaérobie, à bouts arrondis, mobile, prenant le Gram, non sporulé.

Se développe facilement. En bouillon Martin glucosé, trouble abondant en vingt-quatre heures. Odeur fétide.

En gélose de Veillon, colonies ayant l'aspect de cœurs jaunes.

Liquéfie rapidement la gélatine.

Décolore et coagule le lait tournesolé.

Attaque le blanc d'œuf cuit en le rendant transparent après quelques semaines.

Peu pathogène, 5 centimètres cubes de culture, inoculés sous la peau du cobaye, tuent en trente-six heures à trois jours. Il se forme un phlegmon gazeux local, légèrement putride.

BACILLUS HISTOLYTICUS.

Décrit par MM. Weinberg et Seguin comme un des agents des infections gazeuses.

C'est un bacille anaérobie, mobile, cilié, sporulé, prenant le Gram.

Il donne en bouillon Martin glucosé un trouble uniforme, avec odeur légèrement putride ; pas de dégagement gazeux.

Attaque lentement le blanc d'œuf cuit, qu'il rend transparent après quelques semaines.

En gélose de Veillon, en vingt-quatre heures, colonies grisjaunâtre, de 1 à 2 millimètres de diamètre, présentant un noyau central irrégulier, entouré d'une auréole de filaments ramifiés et enchevêtrés.

Liquéfie la gélatine.

Coagule le lait en fins grumeaux qui sont ensuite digérés; en huit à dix jours, il reste un liquide clair, jaune ambré.

Pathogène pour le cobaye, le lapin, la souris, le rat.

Chez le cobaye, l'inoculation intramusculaire (cuisse) détermine après quelques heures de l'œdème mou, envahissant. Puis la lésion progresse, le tissu conjonctif et les muscles sont liquéfiés ; l'épiderme cède et la lésion s'ouvre à l'extérieur, laissant échapper une bouillie hémorragique constituée par les tissus digérés. Les os sont dénudés. L'articulation du genou est fréquemment atteinte, et à son niveau le membre peut se détacher spontanément (auto-amputation). La mort survient en douze à vingt-quatre heures. On constate en plus des lésions précédentes, du côté opposé à l'injection, une nappe hémorragique limitée par un œdème rouge. Parfois la paroi abdominale est perforée et l'intestin fait hernie. Le microbe pullule dans la bouillie musculaire et passe dans le péritoine. A noter que les lésions ne sont ni putrides, ni gazeuses.

Les cultures jeunes renferment une toxine, qui tue le lapin à dose de 1 à 2 centimètres cubes par inoculation intraveineuse.

CHAPITRE XLIX

MICROBES ANAÉROBIES DES PROCESSUS FÉTIDES ET GANGRÉNEUX

Les processus fétides et gangréneux sont dus à la pullulation de microbes anaérobies.

Ces processus répondent à deux ordres de faits notablement différents.

Les uns sont consécutifs aux plaies externes, telles que plaies de guerre, traumatismes de rues, etc. Ils sont alors provoqués par les agents habituels de la gangrène gazeuse, déjà étudiés ci-dessus et sur lesquels nous n'avons pas à revenir. Signalons simplement qu'au point de vue clinique, ces processus ont pour caractère de ne pas présenter de tendance à l'envahissement des tissus, et de ne pas manifester de signes importants d'intoxication générale, contrairement à ce qu'on voit dans la gangrène gazeuse. Les agents les plus habituels sont le *Bac. perfringens*, le *Bac. sporogenes*, le *Bac. putrificus*.

D'autres sont « spontanés », ou tout au moins surviennent sans plaie extérieure. Le rôle des anaérobies dans bon nombre de lésions médicales a été en effet nettement démontré dans ces dernières années par d'importants travaux à la suite de Veillon et Zuber.

On a successivement mis en évidence leur intervention dans l'appendicite (Veillon et Zuber, Grigoroff), dans les pleurésies putrides (Guillemot, Rist et Hallé), la gangrène pulmonaire (Guillemot), les infections urinaires (Veillon, Albarran et Cottet, Jungano), les bartholinites (Hallé), les infections puerpérales (Jeannin), les phlegmons gazeux (Veillon, Frænkel), les suppurations des voies biliaires et du foie (Gilbert et Lippmann), etc.

Les processus pathologiques réalisés par les espèces anaérobies sont des plus variés. Ils présentent volontiers la forme clinique de suppurations gangréneuses (pleurésie putride, phlegmon gazeux, etc.), mais ils évoluent souvent aussi sous des aspects qui ne rappellent en rien la gangrène.

Les microbes anaérobies que nous étudions dans ce chapitre pré-

sentent cette particularité d'être couramment *plusieurs associés* dans une même lésion.

Plusieurs agents pathogènes de la gangrène gazeuse peuvent être rencontrés dans les processus gangréneux médicaux, spécialement le *Bac. perfringens* (un des plus fréquents), le *Bac. sporogenes* et le *Bac. putrificus*.

BACILLUS RAMOSUS.

Le *Bacillus ramosus* (Veillon et Zuber), rencontré parfois dans diverses suppurations et dans les sinusites, est un des agents les plus ordinaires des gangrènes pulmonaires, des pleurésies putrides, des otites et des appendicites.

C'est un Bacille long, le plus souvent isolé, parfois disposé en V ou en petits amas (comme le Bacille de Löffler) ou en courtes chaînettes, parfois filamenteux. Il présente assez souvent en cultures des ramifications latérales ou terminales.

Immobile, non sporulé, il se colore surtout par le violet de gentiane ; il prend le Gram.

Les cultures, exclusivement anaérobies, se font bien sur les milieux ordinaires. Elles répandent une odeur fétide, aigrelette. Les colonies, isolées sur gélose en profondeur, sont petites, grisâtres ; d'abord rondes, au deuxième ou troisième jour, elles prennent ensuite la forme de cube, de trièdre ou de tétraèdre ; elles sont hérissées de filaments fins et courts. En bouillon, on constate un trouble uniforme. Le lait est coagulé. Il n'y a pas de culture sur gélatine.

En cultures, la vitalité persiste pendant un mois.

Inoculé sous la peau du cobaye, le *B. ramosus* provoque la formation d'un abcès. Il agit de même chez le lapin, qu'il tue en huit à dix jours.

BACILLUS FUNDULIFORMIS.

Le *Bacillus funduliformis* (Hallé) parfois appelé *B. thetoides* (Rist, Guillemot), a été signalé dans le pus des otites, des abcès du foie, des abcès urineux, des bartholinites, dans la gangrène pulmonaire et les pleurésies putrides. Hallé l'a en outre isolé du vagin normal.

Très polymorphe (fig. 264), il se présente le plus souvent sous forme d'un bâtonnet effilé aux extrémités ; mais d'autres formes ne sont pas rares : formes filamenteuses, tantôt régulières, tantôt renflées en boule ou en poire en certains points ; formes bifurquées.

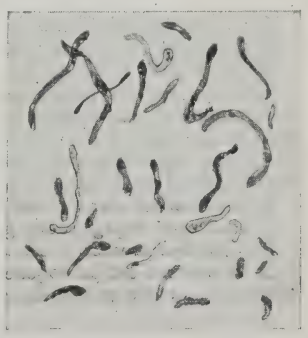


Fig. 264. — *Bacillus funduliformis.*

Le *B. funduliformis* est immobile et ne donne pas de spores. Il se colore assez mal, et souvent la coloration prédomine au centre, ce qui donne un aspect rappelant la lettre grecque θ.

Il ne prend pas le Gram.

Les cultures, exclusivement anaérobies, sont surtout abondantes sur gélose de Veillon. Les colonies isolées en profondeur, apparues en quarante-huit heures, sont punctiformes (environ 1 millimètre), transparentes, homogènes, de coloration jaunâtre. En bouillon sucré, trouble léger. Pas de développement sur gélatine.

Les cultures dégagent peu de gaz; elles exhalent une odeur fétide.

Leur vitalité est faible, huit jours environ.

Le Bacille téthoïde, inoculé sous la peau du cobaye, provoque la formation soit d'un abcès localisé, soit d'un abcès gangréneux entraînant la mort.

BACILLUS FRAGILIS.

Le *B. fragilis* (Veillon et Zuber[1], signalé dans les abcès du foie, les sinusites, la carie dentaire, parfois dans les calculs biliaires, est souvent présent au cours des appendicites, des abcès urineux, des gangrènes pulmonaires et des pleurésies putrides.

C'est un Bacille fin dans le pus, plus épais en culture, difficile à colorer, souvent plus coloré aux extrémités, ce qui le fait ressembler à un diplocoque. Il ne prend pas le Gram. Il est immobile.

Les cultures, lentes, débutent après trois à quatre jours. En gélose de Veillon, les colonies sont petites, jaune brunâtre, parfois mûriformes. Pas ou peu de gaz, odeur fétide. En gélatine, les colonies sont arrondies; le milieu n'est pas liquéfié.

La vitalité, faible, s'éteint après une semaine.

Le *B. fragilis* est pathogène pour le cobaye et pour le lapin (abcès, souvent mortels).

BACILLUS SERPENS.

Le *Bacillus serpens* (Veillon) a été rencontré dans l'appendicite, les mastoïdites, dans la gangrène pulmonaire, les pleurésies putrides. Il a été étudié surtout par Rist.

Il se présente sous forme de bâtonnets, assez gros, à extrémités arrondies, souvent bout à bout, par deux ou davantage.

Il ne prend pas le Gram.

Légèrement mobile, il progresse surtout par ondulation.

Le *B. serpens* donne en gélose, en vingt-quatre heures, de petites colonies; à un faible grossissement, elles apparaissent arrondies, grisâtres, transparentes, granuleuses, hérissées de hachures; plus tard, les colonies deviennent opaques,

En gélatine, au bout de quatre à cinq jours, colonies arrondies, grisâtres; le milieu est lentement liquéfié, les colonies restant suspendues dans le liquide.

Le bouillon est d'abord troublé, puis s'éclaircit.

Les cultures dégagent des gaz peu abondants, fétides.

En cultures, la vitalité est longue, trois à quatre semaines.

Le *B. serpens* est pathogène pour le cobaye et pour le lapin (abcès; cachexie mortelle en une semaine).

BACILLE NEIGEUX.

Le *Bacille neigeux* (Jungano) est un des microbes le plus fréquemment rencontrés dans les diverses infections de l'appareil urinaire.

Sa morphologie est celle du *B. perfringens*, mais ses extrémités sont arrondies ; il est immobile, se colore facilement, prend le Gram et ne donne pas de spores.

Les cultures se développent facilement en gélose profonde, sous forme de colonies blanchâtres, irrégulières, semblables à des flocons de neige.

Il n'y a pas de développement en gélatine et en bouillon.

BACILLUS NEBULOSUS.

Le *B. nebulosus* (Hallé) a été rencontré dans les abcès urineux, les bartholinites, les abcès du foie, les pleurésies putrides,

C'est un petit bâtonnet, immobile, facile à colorer ; il ne prend pas le Gram.

En gélose, ses colonies sont floconneuses, avec centre brun. Il ne se forme pas de gaz.

Action pathogène inconstante.

BACILLUS RADIIFORMIS.

Le *Bacillus radiiformis* (Rist et Guillemot) est parfois en cause dans les abcès du foie, les otites, certaines infections puerpérales, les pleurésies putrides.

Il se présente sous forme de bâtonnet rectiligne, facile à colorer, souvent plus coloré aux extrémités ; il ne prend pas le Gram. Il est immobile.

Les cultures sur gélatine sont assez caractéristiques ; en trois à quatre jours, les colonies ont la forme d'un petit grain nacré avec noyau plus opaque ; au microscope, le centre se montre entouré de prolongements radiés droits et courts, donnant l'aspect d'un oursin, bien visibles à un faible grossissement. Plus tard, le milieu se liquéfie.

En gélose, les colonies sont discoïdes, blanc jaunâtre, très petites. La vitalité, faible, s'éteint en huit à dix jours.

Le *B. radiiformis* est pathogène pour le cobaye (abcès, mort en huit à dix jours).

SPIRILLUM NIGRUM.

Le *Spirillum nigrum* (Rist) est un agent des otites et des gangrènes pulmonaires. Il est surtout caractérisé par sa morphologie et par son pouvoir chromogène.

Morphologiquement (fig. 265), il se présente sous forme d'éléments grêles, incurvés, en forme d'S ou de parenthèse ; non colorés, la plupart de ces éléments sont marqués d'un grain noir dans leur continuité. Ils se colorent au mieux par le Ziehl ; ils ne prennent pas le Gram.

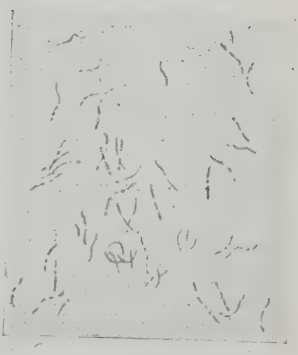


Fig. 265. — *Spirillum nigrum.*

Leur mobilité est extrême.

En gélose sucrée, après un ou deux jours, les colonies isolées ont un aspect variable : elles sont souvent noires, arrondies ou biconvexes, 2 à 3 millimètres de diamètre ; d'autres sont brun grisâtre. Quand l'ensemencement est

abondant, il se forme un nuage grisâtre, tacheté d'amas noirâtres. La culture est plus marquée vers la partie superficielle de la zone d'anaérobiose.

En gélatine glucosée, les colonies sont noires, non liquéfiantes.

Toutes les cultures exhalent une odeur très fétide; elles dégagent peu de gaz.

La vitalité en cultures est assez grande, un mois environ.

DIPLOCOCCUS RENIFORMIS.

Le *Diplococcus reniformis* (Cottet) a été signalé dans les abcès urineux et les abcès du foie.

Sa morphologie rappelle celle du Gonocoque : c'est un diplocoque en grain de café, ne prenant pas le Gram. Il est immobile.

Il donne en deux jours, en gélose sucrée, des colonies lenticulaires petites, transparentes.

Il est assez vivace; trois mois environ en cultures.

Inoculé sous la peau du cobaye, il provoque un abcès.

STAPHYLOCOCCUS PARVULUS.

Le *Staphylococcus parvulus* (Veillon et Zuber) paraît assez répandu; on l'a trouvé en effet dans l'appendicite, la gangrène pulmonaire, les pleurésies putrides, les otites, les abcès urineux, l'infection puerpérale.

C'est un coccus plus petit que le Staphylocoque doré, disposé en amas ou en diplocoques; il ne prend pas le Gram.

Les colonies isolées en gélose sucrée sont cuboïdes, légèrement jaunâtres. La culture se fait également en bouillon (trouble avec dépôt) et en gélatine (colonies brunâtres, sans liquéfaction). Les cultures sont fétides.

Inoculé au cobaye et au lapin, sous la peau, il produit un abcès.

STAPHYLOCOQUE DE JUNGANO.

Ce microbe est un agent des infections urinaires et des inflammations oculaires.

Il se présente sous forme de cocci très petits, prenant le Gram.

Les colonies en gélose sont, au début, petites et luisantes, après deux ou trois jours; puis elles se foncent au centre.

Il pousse en bouillon (trouble), de même qu'en gélatine, sans liquéfier. Il ne donne pas de gaz.

Sa vitalité est prononcée; elle persiste deux mois en cultures.

MICROCOCCUS FŒTIDUS.

Le *Micrococcus fœtidus* (Veillon) se rencontre dans les suppurations gangréneuses (angine de Ludwig, etc.), les otites, les cholécystites suppurées, les pleurésies putrides, les bartholinites, les infections puerpérales. On le trouve en outre à l'état normal dans l'urètre et dans le vagin.

Dans les exsudats, il se présente en cocci isolés ou diplocoques. En bouillon, il donne de courtes chaînettes.

Il est immobile, se colore facilement et prend le Gram.

En gélose sucrée, les colonies isolées apparaissent en vingt-quatre à trente-six heures; elles sont rondes, blanchâtres, assez grosses.

En bouillon sucré, on observe des grumeaux; le liquide demeure clair. L'odeur est fétide; peu ou pas de gaz.

Il n'y a pas de culture en gélatine.

Le pouvoir pathogène est variable. Inoculé sous la peau du cobaye, il produit un abcès ou de la gangrène à marche envahissante et mortelle.

STREPTOCOQUES ANAÉROBIES.

Certains microbes présentent la morphologie du Streptocoque, mais sont strictement anaérobies. Citons les Streptocoques isolés par Graf et Wittneben de divers abcès; le Streptocoque de Sternberg; le *Streptococcus anaerobius micros*, rencontré par Lippmann dans des infections biliaires. Ces divers microbes poussent bien sur bouillon et gélose, à l'abri de l'air. L'un de nous (Sacquépée) a également rencontré un Streptocoque strictement anaérobie dans les plaies dites cadavériques.

CHAPITRE L

CHARBON SYMPTOMATIQUE. — BOTULISME BACILLUS BIFIDUS

BACILLUS CHAUVÆI (CHARBON SYMPTOMATIQUE).

Le *Bacillus Chauvæi* a été décrit par Arloing, Cornevin et Thomas (1879), comme l'agent spécifique du charbon symptomatique

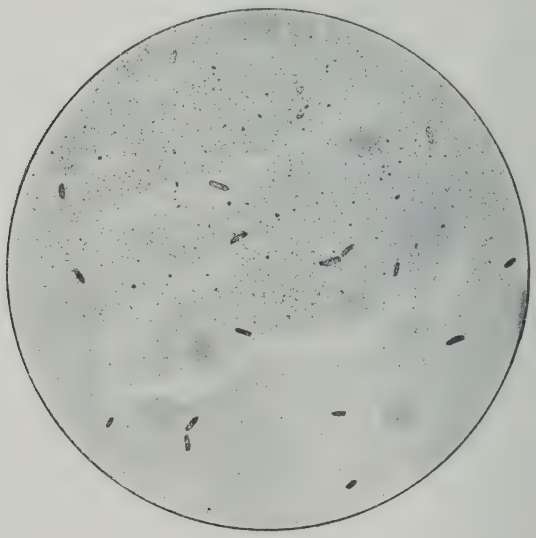


Fig. 266. — *Bacillus Chauvæi* (sérosité de tumeur charbonneuse).

des bovidés. Il présente des analogies étroites avec le Vibrion septique. Le degré de parenté des deux microbes est discuté. Nous résumerons à la fin du chapitre les principaux éléments de la discussion.

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — Le *Bacillus Chauvæi* se présente sous forme de Bacilles rectilignes, mesurant 5 à 8 μ de long sur 1 μ de large (fig. 266).

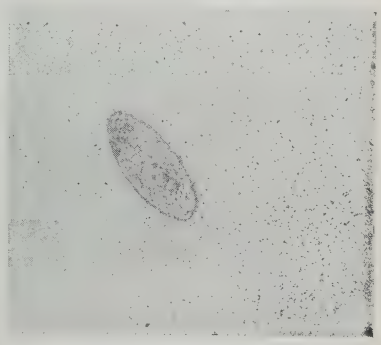
A la surface des séreuses des animaux inoculés, les Bacilles sont parfois disposés bout à bout, mais les éléments de la chaînette sont peu nombreux et sont tous égaux entre eux, contrairement à ce qui se passe pour le Vibrion septique (Leclainche et Vallée).

Spores. — Le *Bacillus Chauvæi* forme des spores, aussi bien dans les cultures que dans l'organisme. Chez l'animal, les spores peuvent manquer lorsque l'infection évolue très vite. Elles sont disposées tantôt à une extrémité, tantôt dans la continuité (aspect en massue ou en fuseau).

Mobilité, cils. — Le Bacille est mobile, mais seulement en l'absence d'oxygène (au centre des préparations). La mobilité est due à des cils (en moyenne cinq à six).

Coloration. — Le *Bacillus Chauvæi* se colore facilement par les procédés habituels. *Il prend le Gram.*

Les spores et les cils se colorent par les procédés spéciaux.



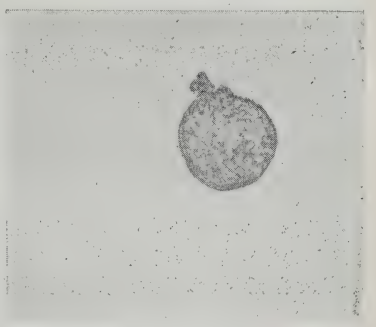


Fig. 267 et 268. — *Bac. Chauvæi.* Colonies isolées en gélose glucosée profonde.

CULTURES.

Caractères généraux. — Les cultures se font exclusivement à l'abri de l'air. La température optima de développement est 37°.

Bouillon Martin. — C'est le milieu de choix (Leclainche et Vallée). En bouillon Martin frais (moins de six jours) et stérilisé par filtration, la culture est abondante. En quinze heures, le

liquide est déjà trouble, il se dégage des gaz; après vingt-quatre heures, apparaissent des flocons; après quarante-huit heures, le milieu est clair, tandis que le fond est tapissé d'un dépôt blanc, granuleux. La culture dégage une odeur de beurre rance.

Bouillon ordinaire, frais. — Les caractères sont les mêmes que ci-dessus, mais très atténués; la culture reste pauvre.

Gélatine. — En piqures. — Il se forme en profondeur, le long de la strie, une culture granuleuse, blanchâtre, qui émet de courts prolongements latéraux (aspect de chenille). Le milieu est liquéfié; il est souvent fragmenté par des gaz.

Colonies isolées. — Elles sont arrondies, blanchâtres.

Gélose. — Les colonies isolées ressemblent un peu à celles du *Bac. perfringens*: masses arrondies ou lenticulaires biconvexes, à bords nets ou mousses, présentant souvent de petites excroissances (fig. 267 et 268).

Lait. — Le lait est d'abord coagulé, puis la caséine est dissoute, et le milieu devient transparent.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Comme tous les microbes sporulés, le *Bacillus Chauvæi* est très résistant à la chaleur. Dans les cultures âgées de quatre jours, les spores résistent à une demi-heure de chauffage à 90°-95°; elles sont tuées par l'exposition à 100° pendant quelques minutes.

Beaucoup d'expériences concernant la virulence impliquent *a fortiori* la persistance de la vitalité. La dessiccation n'a guère d'influence; le suc des tumeurs charbonneuses, desséché, demeure très virulent pendant plus de deux ans (Arloing, Cornevin et Thomas); des fragments de tumeur, conservés dans du papier, sont encore virulents après dix ans (di Mattei). La virulence persiste au moins six mois dans les tumeurs putréfiées.

Réactions biochimiques. — Le *Bacillus Chauvæi* fermente la glucose et la lactose.

Il donne des traces d'indol.

Il attaque légèrement le blanc d'œuf cuit.

Réactions à l'égard des sérums. — Le *Bacillus Chauvæi* est agglutiné par le sérum des animaux infectés, de même que par le sérum des animaux inoculés (Leclainche et Vallée). Le taux d'agglutination oscille entre 1 p. 200 et 1 p. 1000. Le sérum spécifique n'a pas d'action sur le Vibrion septique.

ACTION PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles. — Le *Bacillus Chauvæi* est naturellement pathogène pour le bœuf, le buffle, le renne, plus rarement pour le mouton, la chèvre et le porc, exceptionnellement pour le cheval.

Le charbon symptomatique est avant tout une maladie des bovidés. Il est endémique dans certaines régions, surtout aux États-Unis, au Transvaal et, sous le nom de *mancha*, en Argentine. En France, il se rencontre surtout en Auvergne, dans le Limousin, le Berry et le Jura. La mortalité est parfois considérable, atteignant jusqu'à 14 p. 100 de l'effectif.

Dans les régions infectées, la maladie respecte les bêtes autochtones âgées de plus de quatre ans, mais elle ne respecte pas les bêtes importées, même âgées.

Bradsot du mouton. — On désigne sous le nom de *bradsot* une maladie épizootique du mouton, sévissant en Norvège et en Écosse. Les lésions rappellent le charbon symptomatique. Le microbe, étudié par Nielsen, paraît bien voisin du *B. Chauvæi*, dont il ne diffère que par sa virulence expérimentale plus étendue ; il est en effet pathogène non seulement pour le veau, le mouton, le porc et le cobaye, mais encore pour le pigeon, la poule et la souris.

Action pathogène expérimentale. — *Virulence.* — La virulence des tissus ou sérosités pathologiques est très marquée et se conserve pendant longtemps, comme nous l'avons vu ci-dessus. Dans les cultures, au contraire, la virulence baisse rapidement.

On peut atténuer la virulence par le chauffage; on crée ainsi des *virus atténués*, utilisés pour la vaccination (Voy. plus loin).

Inversement, on peut augmenter la virulence d'un germe atténué en injectant en même temps de l'acide lactique ou acétique, ou des microbes inoffensifs (*Bacillus prodigiosus*), ou en traumatisant le point d'inoculation.

L'injection des spores seules est inoffensive.

On peut inoculer soit des cultures jeunes en bouillon Martin, soit le suc des tumeurs charbonneuses, ou la poudre d'Arloing (Voy. ci-dessous) additionnée d'une trace d'acide lactique ; soit enfin le sang des animaux infectés, après l'avoir laissé deux jours à 37°.

Animaux réceptifs. — Le bœuf, le mouton, le cobaye sont très sensibles; le lapin l'est beaucoup moins. Le chien, la souris, les oiseaux sont réfractaires.

Chose remarquable, le *bœuf* est infiniment moins sensible à l'inoculation intraveineuse qu'à l'inoculation sous-cutanée. Une dose de virus considérable (jusqu'à 6 centimètres cubes de suc musculaire) provoque seulement des accidents passagers curables, lorsqu'elle est inoculée dans les veines; mais si une parcelle du

liquide inoculé passe dans le tissu cellulaire, il se produit en ce point une « tumeur » rapidement mortelle (Arloing, Cornevin et Thomas).

L'inoculation sous-cutanée, chez le bœuf, peut être cependant inoffensive quand elle est pratiquée dans un tissu très dense (extrémité de la queue). Lorsque le tissu est lâche, il se produit une tumeur charbonneuse, présentant les mêmes symptômes et la même évolution rapidement mortelle que dans la maladie naturelle.

Le *mouton* et le *cobaye* réagissent de même que le bœuf à l'inoculation sous-cutanée.

Inoculation sous-cutanée ou intramusculaire au cobaye. — On inocule d'ordinaire dans les muscles de la cuisse. En vingt-quatre heures, il se développe une véritable tumeur charbonneuse: tuméfaction chaude, douloureuse, crépitante, très étendue. L'animal meurt en un à trois jours.

A l'autopsie, on trouve au niveau de la tumeur un tissu musculaire noirâtre, surtout au centre, et comme semé d'alvéoles dus à la présence de gaz. Autour, le tissu cellulaire est infiltré par un œdème rougeâtre, très étendu, avec bulles de gaz. Les tissus dégagent une odeur butyrique. Il existe de l'hypertrophie des ganglions; le foie est souvent un peu gros. On retrouve les Bacilles dans la tumeur et sur le péritoine; ils sont très rares dans le sang.

TOXINES.

D'après Leclainche et Vallée, les cultures en bouillon Martin donnent une toxine, qui est à son maximum au cinquième jour. Cette toxine est résistante à la chaleur; elle est détruite en quarante-huit heures par une large aération; elle est en grande partie retenue par les filtres. L'une de ses propriétés les plus remarquables est la rapidité de son action: l'injection intraveineuse de cultures simplement décantées, non filtrées, tue le lapin en cinq minutes à cinq heures, à dose de 2 à 5 centimètres cubes; elle peut tuer le cheval en dix minutes, à dose de 6 centimètres cubes.

Eisenberg, par un procédé analogue (cultures dans un mélange de bouillon Martin et de sérum de lapin; décanter et centrifuger), obtient une toxine qui tue le lapin à dose de 1 à 9 centimètres cubes par inoculation intraveineuse.

Grassberger et Schattenfroh ont également préparé une toxine active sur le cobaye, le lapin, de même que sur des animaux réfractaires : souris, chien.

M. Nicolle, Césari et Mlle Raphaël ont obtenu une toxine soluble, qui ne diffère pas de la toxine du vibrion septique (Voy. *Vibrion septique*).

VACCINATION.

On peut vacciner les animaux par inoculation de toxines, ou de bacilles virulents, ou de virus atténués.

A. **Immunisation par les toxines.** — Roux a réussi à vacciner les cobayes en leur inoculant soit des cultures de quinze jours stérilisées par

le chauffage (trois inoculations intrapéritonéales de 40 centimètres cubes à deux jours d'intervalle), soit la sérosité charbonneuse filtrée.

B. **Immunisation par les bacilles virulents.** — Arloing, Cornevin et Thomas ont vacciné le bœuf par injections intraveineuses. Mais le procédé est dangereux (Voy. ci-dessus) et ne peut être généralisé en pratique.

Procédé de Thomas. — La méthode de Thomas est mal connue. D'après Nocard et Leclainche, elle consiste à insérer dans un trajet borgne pratiqué au toupillon un fil imprégné de virus ; on laisse le fil à demeure. Le virus provient de grenouilles ; le passage par les grenouilles diminue la virulence. Cette technique aurait été utilisée largement dans la pratique, sans inconvénients sérieux.

C. **Immunisation par les virus atténués. — Procédé d'Arloing, Cornevin et Thomas.** — C'est le procédé le plus employé encore à l'heure actuelle.

Il comporte l'emploi de deux vaccins atténués par la chaleur. Les tumeurs charbonneuses sont triturées avec un peu d'eau, filtrées sur linge, séchées en couche mince à 37°. La poudre obtenue, additionnée de deux fois son poids d'eau, est chauffée à sec en couche mince, pendant sept heures : à 100-104° pour le premier vaccin ; à 90-94° pour le deuxième vaccin.

Ces vaccins sont livrés par paquets de dix doses au moins. Au moment de l'emploi, on broie le vaccin dans un mortier stérile, en ajoutant peu à peu la quantité d'eau nécessaire pour 10 centimètres cubes ; on filtre sur linge stérile. On inocule chaque fois 1 centimètre cube au toupillon. Les deux inoculations sont faites à huit à dix jours d'intervalle. Il ne faut vacciner que les bovidés âgés de huit mois au moins.

Les vaccinations ont été pratiquées par ce procédé sur une large échelle. Les résultats d'ensemble sont satisfaisants ; l'inoculation elle-même est peu dangereuse (les pertes ne dépasseraient pas 0,25 p. 1 000 d'après Strebel), et les animaux traités ne prennent presque jamais le charbon. Il y a eu cependant quelques mécomptes à ce dernier point de vue ; aussi Arloing a-t-il ultérieurement recommandé de pratiquer les doubles inoculations trois fois pour chaque animal, à huit mois, vingt mois et trente-deux mois.

La poudre d'Arloing est très impure. Elle doit son efficacité à son état pulvérulent et aux impuretés qu'elle renferme : ces deux conditions empêchent la phagocytose et permettent la germination de quelques spores, ce qui assure une infection bénigne vaccinante (Leclainche et Vallée).

Vaccin de laboratoire (Leclainche et Vallée). — Pour les essais de laboratoire, Leclainche et Vallée préparent des vaccins purs. Le sang d'animaux infectés est mis quarante-huit heures à l'étuve, puis séché en couche mince à 37° ; la poudre obtenue est additionnée de son poids d'eau, séchée, puis soumise pendant sept heures au chauffage à sec à 102° (premier vaccin) ou à 92° (deuxième vaccin).

Procédés de Kitt et de Nörgaard. — La poudre, préparée comme dans le procédé d'Arloing, est atténuée par chauffage dans la vapeur d'eau à 98-100° (Kitt) ou à 93-95° (Nörgaard) pendant six heures. Une seule inoculation suffit. Ce procédé paraît avoir donné satisfaction aux États-Unis.

D. **Immunisation par séro-vaccination. — Procédé de Leclainche et Vallée.** — Les auteurs ont tout d'abord essayé de vacciner avec des cultures pures : on inoculait une culture de quatre à cinq jours atténuée par chauffage à 70° pendant deux heures (premier vaccin), puis une petite dose de culture non chauffée (deuxième vaccin); le procédé ayant amené quelques accidents, Leclainche et Vallée ont proposé ensuite le procédé suivant.

On inocule d'abord le sérum (Voy. ci-dessous) à dose de 15 ou 20 centimètres cubes, suivant l'âge. Au bout de quatre à cinq jours, on injecte 1 centimètre cube de culture atténuée par chauffage à 65-70° pendant trois heures.

SÉROTHÉRAPIE.

Les premiers essais de Kitt (1893) ont été confirmés depuis. On peut employer pour l'obtention des sérums thérapeutiques le cheval, le mouton, le bœuf ou la chèvre. Les inoculations sont pratiquées à l'aide de doses croissantes de cultures virulentes ou de virus naturel (Kitt, Arloing, Leclainche et Vallée) ou à l'aide de la toxine (Grassberger et Schattenfroh). Dans leurs grandes lignes, les résultats obtenus par les divers expérimentateurs sont concordants.

Le sérum est préventif pour le cobaye, à dose variable (1 à 5 centimètres cubes, Leclainche et Vallée), mais cette immunité passive ne dure que huit jours. Il est préventif également pour le mouton (Kitt, Arloing).

Mélangé au virus, le sérum protège l'animal (cobaye, mouton, bovidés) contre l'infection; mais l'immunité ainsi conférée est très éphémère, et la méthode ne peut être utilisée pour la vaccination.

Les propriétés curatives, nulles à l'égard du cobaye qui succombe trop vite (Leclainche et Vallée), sont manifestes à l'égard du mouton, qu'on peut sauver en inoculant le sérum dans les veines jusqu'à neuf heures après l'injection virulente (Kitt, Arloing).

RAPPORTS ENTRE LE B. CHAUVÆI ET LE VIBRION SEPTIQUE.

Les deux germes possèdent beaucoup de propriétés communes, spécialement en ce qui concerne l'anaérobiose, la morphologie, les propriétés culturales, l'action pathogène sur le cobaye, les lésions constatées dans les maladies naturelles.

Cette analogie doit-elle faire conclure à l'identité? La question est discutée.

Les *dualistes*, spécialement Leclainche et Vallée, Kitasato, Kitt, considèrent les deux germes comme différents, et se basent essentiellement sur les caractères suivants.

Contrairement au Vibrion septique, le *B. Chauvæi* ne se montre

dans l'organisme que sous la forme bacillaire, jamais sous la forme filamenteuse, spécialement à la surface du foie du cobaye.

Le lapin, sensible au Vibrion septique, est réfractaire au *B. Chauvæi.*

Inversement, le bœuf, sensible au *B. Chauvæi*, est réfractaire au Vibrion septique.

Les animaux, vaccinés contre le *B. Chauvæi*, demeurent quand même sensibles au Vibrion septique.

Le sérum anti-symptomatique est incapable de protéger les animaux contre le Vibrion septique.

Des sérums agglutinants, très actifs sur le *B. Chauvæi*, n'agissent pas sur le Vibrion septique; et inversement, *mutatis mutandis*, pour les sérums agglutinant le Vibrion septique.

Les *unicistes*, Roux, Duenschmann, plus récemment M. Nicolle, Césari et M^lle^ Raphaël, pensent au contraire que les deux germes sont identiques. Ils se basent surtout sur les réactions d'immunisation.

Des animaux, vaccinés contre le *B. Chauvæi*, se sont montrés réfractaires au Vibrion septique.

Les sérums actifs contre le Vibrion septique sont également actifs contre le *B. Chauvæi.*

A ces expériences contradictoires, les dualistes les plus autorisés, Leclainche et Vallée, objectent la probabilité de contaminations accidentelles; « la souillure par le Vibrion septique des cadavres des cobayes morts de charbon symptomatique est rapide et presque certaine ». Ces auteurs sont convaincus que les résultats différents des leurs sont dus à ce qu'il a été utilisé, pour les vaccinations, des virus à la fois symptomatiques et septiques.

BACILLUS BOTULINUS.

Le *Bacillus botulinus* (Van Ermengem) est l'agent des empoisonnements alimentaires désignés sous le nom de *botulisme.*

Morphologie. — C'est un Bacille le plus souvent rectiligne, à bouts arrondis, long de 4 à 9 μ. Il présente des spores presque toujours terminales. Il est légèrement mobile, se colore facilement et *prend le Gram.*

Cultures. — L'optimum de développement est aux environs de 22°.

En *gélatine glucosée*, après quatre à six jours, les colonies sont transparentes, arrondies, jaune brun; elles sont formées de grains animés de mouvements visibles à un faible grossissement, surtout à la périphérie. La gélatine se liquéfie peu à peu; il se dégage des

gaz, les colonies deviennent ensuite plus opaques, et les bords sont festonnés.

En *bouillon glucosé*, on obtient un trouble uniforme avec dégagement gazeux et odeur butyrique. Le *lait* n'est pas coagulé.

Vitalité. — La vitalité est considérable, un an environ.

Action pathogène expérimentale. — Le *Bacillus botulinus* ne végète guère dans l'organisme animal; inoculé, il provoque une phagocytose très énergique. Il est peu pathogène pour le lapin et le cobaye.

Toxines. — Les cultures filtrées sont nettement toxiques; la toxine reproduit les principaux symptômes de la maladie naturelle. Chez le *chat*, animal de choix, l'inoculation de $0^{cc},5$ de toxine provoque de l'aphonie, du ptosis, de la mydriase; l'animal succombe en huit à dix jours. La toxine tue la *souris* à dose de $0^{cc},000\,00,3$ après avoir provoqué des paralysies (Landmann).

D'après Brieger et Boer, elle est très vite détruite par les alcalis, l'alcool, les agents d'oxydation, le chauffage à 80° (trente minutes).

Siège. — Le *Bacillus botulinus* a été rencontré dans les aliments altérés, causes de botulisme. Il provient certainement d'une infection accidentelle.

Van Ermengem, Römer ont noté la coexistence de microbes aérobies (sarcines, *B. subtilis*), qui absorbent l'oxygène et favorisent l'anaérobiose.

Sérothérapie. — On peut obtenir un sérum antitoxique en immunisant la chèvre par des injections de toxine (Kempseer).

BACILLUS BIFIDUS.

Le *Bacillus bifidus* (Tissier), bien que ne paraissant pas être pathogène, doit être connu, car il constitue la majeure partie de la flore intestinale des nourrissons élevés au sein (Tissier).

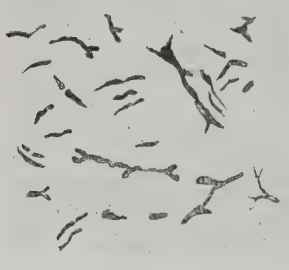


Fig. 269. — *Bacillus bifidus.*

C'est un microbe très polymorphe; dans les cultures jeunes, il se présente d'ordinaire sous forme de Bacille assez mince, effilé aux extrémités; dans les cultures vieilles, on trouve en outre des formes filamenteuses, ou vésiculeuses, ou bifurquées (fig. 269).

Le *B. bifidus* est immobile; il prend le Gram.

Les colonies isolées en gélose de Veillon sont les unes lenticulaires, blanchâtres, présentant un prolongement sur une face; les autres, ovoïdes.

Le lait est coagulé. Le *Bacillus bifidus* fermente la glucose et la lactose.

CHAPITRE LI

BACILLE FUSIFORME

En 1896, H. Vincent, étudiant au point de vue bactériologique la « diphtérie des plaies » ou pourriture d'hôpital, découvrit dans le putrilage qui caractérise cette lésion un Bacille en forme de fuseau,

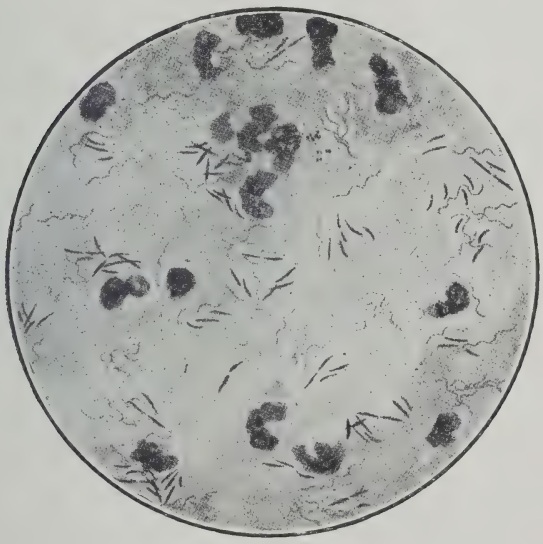


Fig. 270. — Frottis d'angine de Vincent.

auquel il reconnut un rôle spécifique dans l'étiologie de cette dernière. Il le retrouva dans la suite dans les frottis de l'enduit analogue qui recouvre l'ulcère chancriforme d'une variété d'angine qui porte aujourd'hui son nom.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Dans les frottis de la pulpe putrilagineuse qu'il engendre, ce germe se présente sous la forme d'un Bacille long de 4 à 8 μ sur 1 μ environ d'épaisseur. Il est le plus

souvent rectiligne, parfois légèrement incurvé ; suivant les échantillons, la longueur est variable ; tantôt on observe des *formes courtes* qui sont parfois réunies par deux pour former un diplobacille ; tantôt on observe des *formes longues, filamenteuses*, pouvant atteindre 15 μ, et figurant parfois un S, rappelant volontiers les Spirochètes et Spirilles. Les extrémités sont effilées, le corps est renflé vers sa partie médiane, ce qui lui donne l'aspect d'un *fuseau*, d'où son nom de Bacille fusiforme.

Dans les préparations, ces Bacilles peuvent être extrêmement nombreux et former des amas touffus (fig. 270), dont l'ensemble figure comme un buisson d'épines. Leur abondance est en rapport avec le degré des lésions.

Examiné à l'état frais, dans la salive et à chaud, d'après certains auteurs (Letulle, Plaut, Comandon), il présenterait une grande mobilité ; d'autres (Vincent, Mühlens, Ellermann, etc.) n'ont jamais pu l'observer. Plaut aurait noté la présence de cils vibratiles. On s'accorde toutefois à reconnaître leur absence.

Coloration. — Le Bacille fusiforme se colore bien par toutes les couleurs d'aniline. On obtient de très belles préparations avec le violet de gentiane phéniqué, la fuchsine de Ziehl diluée au dixième, etc. *Il ne prend pas le Gram.* Toutefois certaines formes d'involution se décolorent assez difficilement par le Gram.

Les préparations colorées permettent de percevoir certains détails particuliers : en effet, surtout quand l'affection a déjà subi un traitement antiseptique, les formes d'involution sont assez nombreuses ; la coloration du Bacille n'est pas homogène : au milieu du protoplasma, on constate des *vacuoles incolores* qui ne sont pas des spores et ne prennent pas la coloration particulière à ces dernières.

Enfin, en utilisant le colorant de Romanowsky, on met en évidence un ou plusieurs grains chromatiques se détachant en rouge sur le fond bleu du protoplasma.

CULTURES.

Le Bacille fusiforme est difficilement cultivable ; les premiers essais de Vincent étaient restés négatifs. En multipliant les méthodes, on est arrivé à le cultiver sur milieux artificiels, tout d'abord en symbiose avec les éléments qui lui sont fréquemment associés, puis on a fini par obtenir des colonies isolées, en milieux solides anaérobies.

Milieux liquides. — *Bouillon ordinaire.* — En bouillon pep-

tonné ordinaire (Abel, Seitz, de Stœcklin), l'ensemencement d'un produit riche en Bacilles fusiformes donne une culture, dans laquelle le dépôt qui se forme au fond du tube montre des Bacilles fusiformes plus ou moins abondants, mais associés aux bactéries étrangères qui lui sont associées et ont pullulé avec lui ; la partie supérieure du milieu reste claire.

Liquides organiques. — Carnot et L. Fournier ont obtenu un développement assez abondant dans le *liquide d'ascite* ; Niclot et Marotte, dans du bouillon-sérum humain. Vincent a utilisé avec succès le liquide céphalo-rachidien additionné de sang humain, le liquide de pleurésie séro-fibrineuse, le liquide d'hydrocèle, le sérum humain. Les cultures les plus luxuriantes ont été obtenues avec un liquide d'hydarthrose rhumatismale ancienne. Dans ces milieux, les Bacilles se multiplient abondamment ; on les retrouve non seulement dans le dépôt, mais aussi dans le liquide surnageant, et se montrant sous l'aspect qu'ils prennent dans les fausses membranes; on observe même des formes vacuolaires. Mais, ici encore, le Bacille fusiforme est associé à des germes étrangers, spirilles, cocci divers, etc.

Toutes ces cultures dégagent une odeur nauséabonde, fétide, semblable à celle des lésions spécifiques du microbe.

Milieux solides. — L'ensemencement du produit bacillifère en milieux solides *anaérobies* donne naissance à des colonies isolées, distinctes de celles des microbes associés. Lewkowicz, Ellermann, etc., ont utilisé dans ce but des *tubes de Veillon*, où ils avaient réparti de la gélose sucrée additionnée de sérum ; Repaci a obtenu une culture avec la gélose sucrée de Veillon sans sérum.

Dans ce milieu, en vingt-quatre à quarante-huit heures, apparaissent des colonies petites, fines, opaques, gris ou blanc jaunâtre, dont le centre est foncé, les bords réguliers et tranchants. Au bout de cinq à six jours, on peut observer des filaments partant du centre et donnant aux colonies l'aspect d'une méduse (Repaci); en quinze à vingt jours, leur diamètre atteint environ 2 millimètres.

Dans les premiers jours, les colonies sont repiquables, mais leur vitalité diminue rapidement.

ACTION PATHOGÈNE.

Chez l'homme. — H. Vincent a établi que le Bacille fusiforme était l'agent spécifique de la *pourriture d'hôpital*, de certaines *angines ulcéro-membraneuses*, chancriformes (*angine de Vincent*), dont l'exsudat, identique à celui de la pourriture d'hôpital, renferme

de nombreux Bacilles fusiformes, enfin de certaines *stomatites ulcéro-membraneuses*, présentant le même aspect. On l'a rencontré dans des abcès d'origine dentaire, dans le pus d'un abcès du cerveau (Ghon et Vaucher), dans des foyers de gangrène pulmonaire.

Répartition du bacille dans les lésions. — Dans les lésions qu'il engendre, quelle que soit la région où il exerce son rôle pathogène, il produit des désordres identiques : une coupe de la lésion spécifique montre l'existence de trois zones essentielles : dans une zone superficielle, on observe un tissu amorphe, pauvre en éléments cellulaires, contenant, à côté de nombreux cocci prenant le Gram, des Bacilles fusiformes peu abondants; dans une zone sous-jacente à la première, les Bacilles fusiformes pullulent et forment un feutrage microbien extrêmement dense (fig. 271); enfin, dans la zone profonde, constituée par du tissu mortifié, envahi par une barrière leucocytaire, les bacilles sont rares.

Pathogénie. — Le Bacille fusiforme est un hôte normal de la cavité buccale; on le retrouve dans la salive, le tartre dentaire des sujets sains, dans certaines caries dentaires. Du saprophytisme il accède à la virulence quand la cavité buccale est le siège d'une érosion mécanique ou chimique (Athanasiu), ou d'une inflammation locale (Simonin); il se cantonne au niveau de cette lésion, y pullule et y provoque les désordres spécifiques. Enfin il peut se greffer sur des ulcérations existantes produites par la diphtérie, la syphilis, le cancer, auxquels il vient associer son action pathogène.

Ces constatations ont engagé certains auteurs à nier le rôle pathogène spécifique du Bacille fusiforme et à prétendre qu'il ne se rencontre dans les lésions décrites qu'à titre banal. Or le Pneumocoque, le Bacille de Löffler se trouvent normalement parfois dans la bouche des sujets sains; doit-on, pour cette raison, les déposséder de leur rôle spécifique?

Associations secondaires : symbiose fuso-spirillaire. — Les examens bactériologiques montrent qu'au Bacille fusiforme s'associent très fréquemment des bactéries étrangères, et notamment un spirille très fin qui vit pour ainsi dire en symbiose presque constante avec le premier. C'est un long filament ondulé, flexueux, contourné souvent en spirale, en 8 de chiffre, en tire-bouchon (fig. 270). Sa ténuité est extrême. Les spirilles sont isolés ou groupés en une chevelure souvent inextricable.

A l'état frais, il est doué de mouvement très actifs, se meut brusquement, se tend et se détend comme un véritable ressort.

Il se colore beaucoup plus faiblement que le Bacille fusiforme; comme lui, il ne prend pas le Gram.

L'abondance du spirille, comparativement à celle du Bacille fusiforme, est variable; parfois en nombre nettement prédominant, il est d'autres fois en quantité minime. Enfin il peut être absent. Cette constatation, jointe à certains symptômes cliniques, a permis de déterminer le rôle pathogène respectif dévolu au Bacille fusiforme : quand on observe l'angine de Vincent au début, la lésion n'est constituée que par une fausse membrane, avec le Bacille fusiforme seul; plus tard, quand l'ulcération commence à prendre

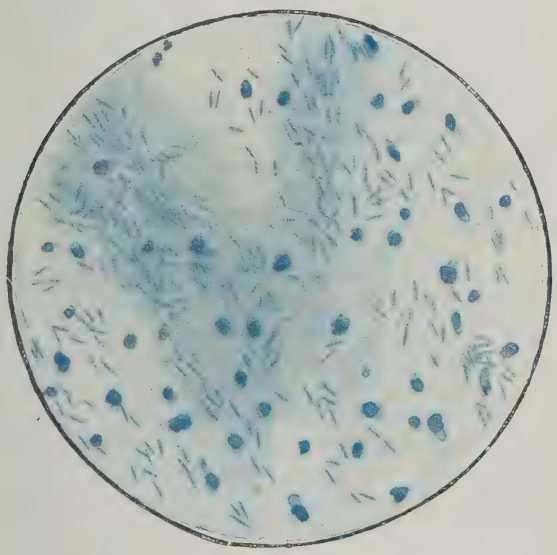


Fig. 271. — Coupe de fausse membrane d'angine de Vincent.

naissance, les spirilles apparaissent. Le Bacille fusiforme serait donc responsable de l'exsudat diphtéroïde, et le spirille de l'ulcération.

D'ailleurs, H. Vincent a pu observer une variété de cette angine (variété diphtéroïde) sans ulcération, où le Bacille fusiforme était seul en cause; il l'a retrouvé en culture pure dans l'exsudat qui recouvre l'amygdale après l'amygdalotomie.

Chez l'animal. — Les premiers essais destinés à reproduire expérimentalement la *pourriture d'hôpital* sur l'animal restèrent sans résultat. H. Vincent recouvrit de putrilage, provenant des lésions humaines, des plaies artificielles provoquées chez le lapin, le cobaye, le rat blanc; les blessures se cicatrisèrent sans présenter les altérations caractéristiques de l'affection.

Il en fut de même des injections sous-cutanées, qui produisirent bien parfois des abcès, mais dus aux germes habituels de la suppuration; de même encore des injections intrapéritonéales, intraveineuses, intramusculaires, même après de fortes contusions au point d'inoculation.

Toutefois, en opérant sur un lapin arrivé à un degré accusé de cachexie tuberculeuse, l'injection sous-cutanée du produit bacillifère amena la production d'une plaie caractéristique. Il en fut de même quand H. Vincent associa au Bacille fusiforme des germes étrangers, tels que le Staphylocoque, le Streptocoque, le Colibacille, etc.

Les lésions présentèrent histologiquement et bactériologiquement les caractères des lésions humaines.

Plus tard, Coyon réalisa la pourriture d'hôpital chez le cobaye : il détermina tout d'abord dans la cuisse d'un cobaye une plaie anfractueuse avec dilacération musculaire; il y introduisit ensuite des fragments de fausse membrane, puis sutura et collodionna la peau. Une vingtaine de jours après, une vaste plaie en entonnoir se développa, recouverte d'une fausse membrane sanieuse, riche en Bacilles fusiformes.

Avec les fausses membranes provenant d'*angines à Bacilles fusiformes*, l'injection sous-cutanée, intramusculaire, produit des abcès et des foyers nécrotiques caractéristiques avec pullulation du Bacille fusiforme et du spirille. L'injection dans le péritoine donne des abcès qui siègent à la face externe du foie.

L'inoculation des *cultures* où le Bacille fusiforme est en symbiose donne souvent des résultats positifs. A l'aide de *cultures pures* (2 centimètres cubes sous la peau), Repaci détermina chez la souris un abcès et une nécrose étendue avec l'aspect typique de la lésion humaine.

RECHERCHE ET DIAGNOSTIC.

Il est simple de reconnaître les lésions dues au Bacille fusiforme : on prélève une parcelle de putrilage recouvrant la lésion; on en fait le frottis sur lames; après fixation, on colore une lame par le violet de gentiane phéniqué, une autre par la méthode de Gram avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée. Au milieu des rares leucocytes dégénérés, l'examen ne tarde pas à révéler le Bacille fusiforme, avec son aspect classique et le spirille presque constant, tous deux décolorés par le Gram et ayant pris la teinte rouge de la fuchsine.

CHAPITRE LII

BACILLE TUBERCULEUX

Villemin découvrit d'abord que la tuberculose est une maladie infectieuse inoculable. L'agent pathogène fut décrit et étudié par Robert Koch (1882) ; aussi l'appelle-t-on communément *Bacille de Koch*.

On connaît actuellement *quatre types* de Bacilles tuberculeux, identiques les uns aux autres dans leurs caractères fondamentaux, mais différenciés par certaines particularités biologiques : ce sont les Bacilles *humain*, *bovin*, *aviaire* et *pisciaire*. Faut-il considérer ces quatre types comme autant d'espèces différentes, fixées dans leurs propriétés, spécialement dans leur électivité pathogène à l'égard de l'espèce animale indiquée par leur désignation ; ou bien comme de simples variétés d'une espèce unique, variétés susceptibles de se transformer les unes dans les autres ? Le problème, important au point de vue doctrinal, est capital au point de vue pratique, car il commande toute la prophylaxie humaine à l'égard de la tuberculose animale, extrêmement répandue. Aussi devons-nous le discuter brièvement.

I. Bacille humain et Bacille bovin. — Il est incontestable que ces deux bacilles diffèrent l'un de l'autre par plusieurs propriétés ; le second est très pathogène pour le lapin et pour les bovidés ; il n'acidifie pas le bouillon glycériné ; il s'y développe péniblement, contrairement au Bacille humain. Il existe d'autres différences que nous signalerons plus loin.

Ces différences suffisent-elles à séparer les deux bacilles, malgré l'identité de leurs caractères fondamentaux ? Jamais cette opinion n'avait été soutenue sérieusement, lorsque Koch (1901) vint déclarer que le Bacille bovin est foncièrement distinct du Bacille humain, et qu'il est incapable d'infecter l'homme.

A ce moment, les savants se partagent en deux groupes : les *dualistes*, Schutz, Th. Smith, acceptent la nouvelle formule de Koch : les *unicistes*, Nocard, Arloing, Vallée, et avec eux la grande majorité des observateurs, maintiennent l'unité de l'espèce et ne reconnaissent aux caractères différentiels qu'une valeur très contingente.

Depuis, l'expérimentation et l'observation ont fait justice du dualisme. Citons les faits essentiels :

a. Les caractères de culture n'ont rien d'absolu. Il existe des échantillons intermédiaires entre les deux types.

b. Il en est de même des différences de virulence. A la suite de passages par le bœuf (Eber) ou la chèvre (de Jong), le Bacille humain acquiert une virulence exaltée pour les bovidés.

c. L'inoculation de bacilles humains peut vacciner les bœufs contre la tuberculose bovine (bovo-vaccin de Behring, p. 774).

d. Les tuberculines obtenues avec les deux bacilles sont identiques.

e. Certaines affections humaines, spécialement chez les enfants (ostéites, adénites, méningites, granulies), sont provoquées par un bacille du type bovin, dans 25 à 30 p. 100 des cas (moyenne de diverses évaluations : Weber et Taute, Orth ; Commission anglaise, etc.).

f. Inversement, le Bacille humain peut infecter les bovidés.

De tout cela, on peut conclure que *les Bacilles humain et bovin constituent deux types appartenant à une même espèce.*

Il existe un *Bacille type humain* et un *Bacille type bovin* ; l'infection humaine est provoquée généralement par le Bacille type humain, mais parfois aussi par le Bacille type bovin ; il en est de même, *mutatis mutandis*, des infections tuberculeuses des bovidés.

II. Bacille des mammifères et Bacille aviaire. — Le Bacille aviaire se sépare des précédents par diverses particularités, bien mises en lumière par Straus et Würtz, Straus et Gamaleïa. Ici encore, le dualisme a été soutenu. Principaux arguments : le Bacille aviaire donne des cultures plus abondantes, épaisses, molles; il pousse bien à 43° ; il est pathogène pour la poule ; il n'est pas virulent pour le chien ; il tue le lapin et le cobaye sans provoquer de lésions apparentes, autant de propriétés qui feraient défaut au Bacille des mammifères.

Mais toutes ces propriétés sont contingentes. Nocard, à la suite de cultures successives en sacs de collodion dans le péritoine de la poule, et Fischer, par cultures successives dans l'œuf, ont transformé complètement le Bacille humain en Bacille aviaire. D'autre part, après plusieurs passages en milieux artificiels, le Bacille aviaire produit chez le lapin et le cobaye les mêmes lésions apparentes que le Bacille humain (Cadiot, Gilbert et Roger, Courmont et Dor). Il est parfois pathogène pour le chien (Richet et Héricourt), pour le veau (Bang).

On doit donc conclure que le *Bacille aviaire*, comme le Bacille

bovin, *appartient à la même espèce que le Bacille humain* ; il constitue un type, *Bacille type aviaire*, adapté à l'organisme des oiseaux, mais susceptible de perdre, en dehors de cet organisme, tous ses attributs différentiels.

III. Bacille pisciaire. — Il est beaucoup moins étudié, et d'ailleurs beaucoup moins important en pratique. Ses relations avec les autres Bacilles tuberculeux sont encore imprécises.

IV. Nous étudierons ensemble les Bacilles type humain, type bovin

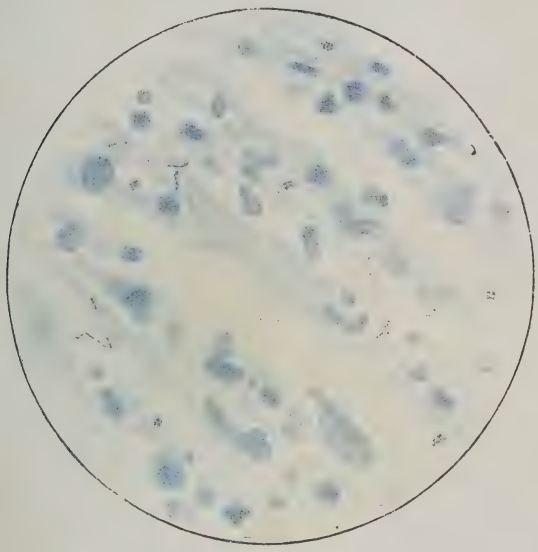


Fig. 272. — Crachats tuberculeux.

Bacilles tuberculeux, colorés en rouge, accompagnés d'autres microbes colorés en bleu. Coloration par le procédé de Ziehl-Neelsen.

et type aviaire, en indiquant au moment voulu leurs particularités respectives.

Le Bacille pisciaire sera décrit séparément.

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — Le Bacille tuberculeux représente en général un bâtonnet, de largeur uniforme, mais de longueur plus variable (fig. 272 et 277). Dans les cultures jeunes ou dans les produits pathologiques, et après coloration, les bâtonnets mesurent en moyenne 1μ,5 à 3 ou 4 μ de long sur 0μ,3 de large ; ils sont

droits ou un peu incurvés, plus rarement comme brisés (I. Straus).

Les bacilles colorés présentent parfois des espaces clairs, ovoïdes, échelonnés régulièrement le long du bâtonnet ; malgré l'opinion de Koch, il ne semble pas que ces espaces clairs représentent des spores.

Après coloration par le Gram modifié (Voy. p. 746, procédé de Much), les bacilles sont généralement formés de granulations séparées par des espaces clairs, de manière à simuler une chaînette de cocci. Cet aspect particulier, décrit depuis longtemps par Straus, a retenu l'attention depuis quelques années ; Much a montré, en effet, que certaines lésions tuberculeuses renferment des bacilles colorables par son procédé, alors que les autres méthodes de coloration ne permettent pas de les déceler.

Dans certaines circonstances, spécialement dans les cultures âgées (Metchnikoff, Nocard et Roux) et dans les cultures amenées à végéter à 45° (Arloing), on rencontre des formes plus longues, et surtout des formes qui rappellent les champignons (fig. 273) : formes filamenteuses terminées en massue, avec prolongements latéraux également terminés en massue. La même disposition a été retrouvée dans les cavernes (Coppen Jones) ; dans les lésions provoquées chez le lapin par divers modes d'inoculation, Babès et Levaditi, Schutz signalent des formes rappelant l'actinomycose (fig. 274), masse filamenteuse centrale avec massues périphériques. On a pris prétexte de ces formes particulières pour rapprocher le Bacille de Koch des Streptothricés ; Metchnikoff a proposé de l'appeler *Sclerothrix Kochii*. Jusqu'à plus ample informé, ces conclusions ne peuvent être admises qu'avec réserves.

Fig. 273. — Bacille de Koch, formes ramifiées et renflées.

Le plus souvent isolés, parfois réunis bout à bout par deux ou groupés en petits amas dans les tissus, les Bacilles se disposent dans les milieux solides en véritables bancs, dans chacun desquels ils sont imbriqués les uns sur les autres, réalisant un aspect d'épi ou de « moustache tordue », suivant l'expression classique. Cette disposition est rendue visible en exécutant une préparation par impression (Koch) : on appuie légèrement une lamelle sur la surface du milieu ; la lamelle enlevée est fixée et colorée (fig. 275).

Mobilité. — Le Bacille de Koch est généralement immobile. Cependant dans les cultures homogènes (p. 751), il est légèrement mobile (Arloing).

Cils. — Inconnus (non colorés jusqu'ici).

Spores. — On ne sait encore si le Bacille de Koch est ou non sporulé.

On a successivement considéré comme spores les points clairs des bacilles colorés (Koch), ou au contraire des granulations un peu plus colorées que le reste (Babès), mais sans preuves à l'appui. Gavina dit avoir rencontré des spores terminales dans des cultures en présence de lusol ou de lusoforme; ces bacilles sporulés seraient plus résistants à la chaleur.

Constitution chimique. — Elle a été beaucoup étudiée, dans l'espoir de trouver la raison des réactions très particulières du Bacille tuberculeux à l'égard des colorants. Le Bacille tuberculeux renferme toute une série de substances qu'on peut extraire par des dissolvants appropriés, alcool, xylol, éther, pétrole, etc. ; des acides gras, des graisses neutres, une cire, des corps analogues à la cholestérine et à la lécithine (Aronson, Auclair) : Bulloch et Mac Leod ont extrait ainsi plus de 40 p. 100 de matières solubles. La plupart de ces substances sont acido-résistantes.

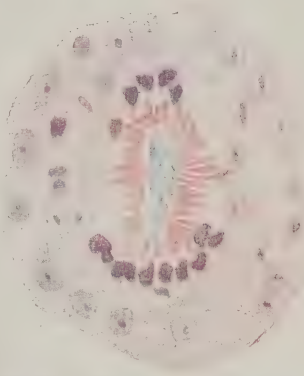


Fig. 274. — Bacille de Koch, forme pseudo-actinomycosique dans les tissus; inoculation expérimentale (d'après Schütz).

Coloration.

Dans les cultures très jeunes (spécialement dans les cultures homogènes), le Bacille de Koch peut être coloré par les procédés ordinaires. Mais, dans les cultures bien développées, de même que dans les produits pathologiques, il ne peut être coloré que par des méthodes spéciales.

Il prend le Gram à l'aide d'une technique modifiée (*méthode de Much*).

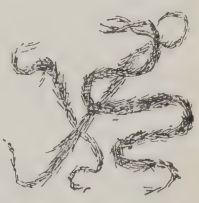


Fig. 275. — Disposition du Bacille tuberculeux en culture; préparation par impression.

Procédés spéciaux de coloration. — Principe. — *Le Bacille de Koch est acido-résistant.* Le principe de la coloration des acido-résistants a été exposé plus haut (p. 242). Il est en outre *alcoolo-résistant*, c'est-à-dire qu'il résiste à la décoloration par l'alcool (Bezançon et Philibert). Il est souvent assez nécessaire de constater à la fois l'acido-résistance et l'alcoolo-résistance avant de conclure à la présence de Bacilles tuberculeux, en raison de la confusion possible avec certains bacilles seulement acido-résistants, mais non alcoolo-résistants (Voy. p. 786).

A. *Coloration dans les cultures et les frottis.* — **Procédé**

de Kühne. — *Procédé recommandé, lorsqu'il n'y a pas de confusion possible avec les acido-résistants.*

1° Colorer par la fuchsine phéniquée :

Soit à froid pendant dix à quinze minutes ;

Soit à chaud, environ deux à trois minutes : chauffer légèrement au-dessus d'une veilleuse, jusqu'à production de vapeurs, puis cesser le chauffage ; recommencer trois fois la même opération. Éviter de faire bouillir.

2° Faire agir pendant quelques secondes l'aniline chlorhydrique (ou chlorhydrate d'aniline) :

Huile d'aniline.....	100 cent. cubes.
Acide chlorhydrique.....	2 —

3° Décolorer par l'alcool absolu ; laver à l'eau.

4° Recolorer le fond par le bleu de méthylène phéniqué dilué au tiers, quelques secondes.

Ce procédé, vulgarisé par Borrel, est très bon. Le chlorhydrate d'aniline change à peine la teinte de la préparation ; mais il a diversement impressionné les éléments qui la composent : l'action ultérieure de l'alcool décolore, en effet, tous ces éléments, sauf les Bacilles tuberculeux, qui restent colorés en rouge.

Procédé de Ziehl-Neelsen. — *Procédé recommandé lorsqu'il y a possibilité de confusion avec les acido-résistants.*

1° Colorer par le liquide de Ziehl, à chaud, pendant dix minutes.

2° Décolorer par l'acide azotique au tiers, deux minutes. La préparation devient incolore. Laver à l'eau. Il réapparaît une teinte rose plus ou moins marquée.

3° Achever la décoloration par l'alcool absolu, cinq minutes. Laver à l'eau.

4° Recolorer le fond comme ci-dessus, ou par le bleu de Unna.

Le Bacille tuberculeux reste coloré en rouge.

Observation. — On peut substituer à l'acide nitrique au tiers l'acide sulfurique au quart.

Procédé de Much. — 1° Colorer à 37° pendant vingt-quatre à quarante-huit heures avec la solution :

Violet de méthyle BN, sol. alc. sat....	10 cent. cubes.
Acide phénique, sol. à 2 p. 100.....	100 —

2° Traiter par la solution iodo-iodurée (p 240), une à cinq minutes.

3° Faire agir successivement : pendant une minute, l'acide nitrique à 5 p. 100 ; puis, dix secondes, l'acide chlorhydrique à 3 p. 100 ; enfin, jusqu'à décoloration, l'alcool-acétone (parties égales).

Procédé de Hauser. — Colorer comme pour le procédé de Kühne. Décolorer par l'acide lactique au dixième ; laver. Recolorer le fond.

Procédé de Gabbet. — Colorer comme ci-dessus ; opérer ensuite simultanément la décoloration et la recoloration de fond en traitant quelques secondes par une solution de bleu de méthylène à 2 p. 100 dans l'acide sulfurique au quart.

Procédé de Spengler. — Colorer comme ci-dessus (procédé de Kühne). Traiter ensuite par l'alcool picriqué, quelques secondes :

Alcool à 60°.....	40 cent. cubes.
Solution saturée d'acide picrique.....	60 —

Laver trois fois de suite à l'alcool à 60°. Décolorer par l'acide sulfurique à 15 p. 100 ; activer la décoloration par l'alcool absolu, laver à nouveau à l'alcool picriqué.

Procédé d'Ehrlich, modifié par Weigert. — Colorer par le mélange :

Solution aqueuse à 3 ou 4 p. 100 d'aniline..	100 cent. cubes.
Solution alcoolique saturée de violet de méthyle ou de fuchsine.....	11 —

pendant quinze à trente minutes. Décolorer par l'acide nitrique au tiers ou l'acide sulfurique au quart. Laver ; recolorer le fond avec une couleur de contraste.

Procédé de Herman. — Le colorant est obtenu en mélangeant au moment du besoin ;

Solution alcoolique de kristall-violet à 3 p. 100..	3 parties.
Solution aqueuse de carbonate d'ammoniaque à 1 p. 100.....	1 partie.

Colorer à chaud environ une minute ; décolorer par l'acide nitrique au dixième ; achever la décoloration par l'alcool absolu. Recolorer le fond par l'éosine aqueuse au centième.

B. *Coloration du Bacille tuberculeux dans les coupes.* — On peut employer les mêmes procédés que pour les frottis. Il faut préférer ceux qui n'altèrent pas les tissus.

Le meilleur est le *procédé de Kühne* : colorer d'abord les noyaux par l'hématéine, environ deux minutes ; laver à l'eau. Colorer les Bacilles par la fuchsine de Ziehl, à froid, quinze à vingt minutes. Faire agir quelques secondes l'aniline chlorhydrique ; décolorer par l'alcool absolu. Traiter par le xylol et monter.

CULTURES.

Conditions générales. — Le Bacille tuberculeux est essentiellement aérobie. La température optima de développement est 38°. Les températures limites compatibles avec la culture sont 30° environ et 41° pour les Bacilles des mammifères, 43° à 44° pour le

Bacille aviaire (adapté à l'organisme des oiseaux, dont la température normale est 40°).

Les Bacilles habitués à la culture *in vitro* se développent bien sur des milieux spéciaux, *milieux albumineux* (Koch), et surtout *milieux glycérinés* (Nocard et Roux). Mais la première culture est assez difficile à obtenir ; nous indiquerons d'abord comment on peut réussir cette culture initiale.

Culture initiale. — A part certains cas spéciaux, que nous retrouverons plus loin (Voy. *Analyses bactériologiques*), il est prudent de suivre une technique imitée de Koch. On inocule sous la peau d'un cobaye des produits sûrement tuberculeux ; après trois ou quatre semaines, l'animal est sacrifié. On recueille aseptiquement des portions largement tuberculeuses de foie ou de rate ; on les broie dans un verre stérile : ce broyage a pour but de libérer les Bacilles, emprisonnés dans les tissus.

A l'aide d'une forte spatule, le produit du broyage est ensemencé sur sérum glycériné ou sur sang gélosé, qui constituent les meilleurs milieux pour cultures initiales. On observera dans cet ensemencement deux règles particulières ; il faut incorporer la semence au milieu de culture, en le dilacérant un peu avec la spatule ; il faut ensemencer plusieurs tubes, dix à quinze en moyenne ; beaucoup d'entre eux ne donnent aucune culture. Les tubes, capuchonnés, seront portés à l'étuve ; les caractères de cultures sont indiqués plus loin. On aura soin de repiquer les premières cultures dès qu'elles sont bien formées, et de préférence sur le même milieu. Dans la suite, le Bacille semble s'acclimater aux milieux artificiels et se développe sur tous les milieux que nous allons étudier.

Observations préliminaires. — Pour le sérum, la gélose et le bouillon glycérinés, il est préférable d'ajouter 6 p. 100 de glycérine, 2 p. 100 de glucose et 1 p. 100 de peptone (Nocard et Roux).

Les cultures devant rester longtemps à l'étuve, on aura soin de toujours capuchonner les récipients.

Nous prendrons comme type d'étude le Bacille tuberculeux des mammifères (humain ou bovin) ; les particularités propres au Bacille aviaire seront indiquées en terminant.

Sérum glycériné (Nocard et Roux). — La culture initiale commence à être nettement visible du douzième au quinzième jour, sous forme de petits mamelons saillants, d'un blanc mat ; quelques jours plus tard, les colonies sont sèches, un peu jaunâtres. Après plusieurs générations, les cultures sont un peu plus précoces et surtout plus abondantes : membrane sèche,

hérissée de mamelons très irréguliers. Le liquide du fond peut présenter soit un voile à la surface, soit des grumeaux dans la profondeur.

Le sérum, indiqué pour les premières cultures, ne vaut pas les milieux suivants pour l'entretien du Bacille.

Gélose glycérinée. — La culture est bien développée en deux à trois semaines. A ce moment, son aspect est un peu variable suivant les échantillons : c'est tantôt une membrane sèche avec saillies verruqueuses à la surface, tantôt un enduit gras, plissé, épais. La couleur, blanchâtre au début, devient souvent brunâtre ou rosée dans la suite. La culture dégage une odeur agréable.

Gélose au hareng glycérinée. — D'après Hip. Martin, la chair de hareng peut être substituée avec avantage à la viande dans la fabrication de la gélose glycérinée; le milieu est plus favorable encore quand on emploie, au lieu d'eau ordinaire, certaines eaux minérales (eau du Mont-Dore surtout) : on fait bouillir la chair de hareng dans une fois et demie son poids d'eau, pendant quarante-cinq minutes; on passe sur un linge, et on opère ensuite comme pour la gélose glycérinée.

Sang gélosé glycériné glucosé. — Sur ce milieu, préconisé par Bezançon et Griffon, la culture est luxuriante, mamelonnée, teintée en brun-chocolat par l'hémoglobine empruntée au milieu.

Milieux à base d'œuf. — *a.* Dorset emploie l'œuf solidifié : on mélange intimement le blanc et le jaune ; après avoir ajouté 10 p. 100 d'eau, on répartit en tubes et on stérilise en position inclinée, par chauffages discontinus à 70°.

b. On peut ajouter le jaune d'œuf à d'autres milieux : mélanger 10 grammes de jaune d'œuf à 20 grammes de gélose glycérinée, maintenue liquide à 45°, mélanger ; laisser refroidir (Bezançon et Griffon) ; ou bien mélanger 70 grammes de jaune d'œuf à 30 grammes de bouillon glycériné stérile, mélanger, coaguler à 90° en position inclinée (Lübenau).

c. Sur ces divers milieux à base d'œuf, le Bacille de Koch se développe bien. Suivant Park, le milieu de Dorset est favorable à la culture du Bacille bovin, alors que le Bacille humain y pousse à peine ; et inversement, le Bacille humain donne de très belles cultures sur milieu de Lübenau, peu favorable au Bacille bovin. Dans tous les cas, les cultures obtenues sur milieux glycérinés au jaune d'œuf sont précoces, abondantes, souvent grasses.

Pomme de terre glycérinée (Nocard). — La culture est abondante et relativement précoce ; elle est visible vers le dixième ou vingtième jour ; elle forme une membrane épaisse, plissée, humide, blanc jaunâtre (fig. 276) ; plus rarement elle demeure sèche.

La culture forme voile à la surface du liquide où baigne le tubercule.

Pomme de terre biliée et glycérinée (Calmette). — On laisse séjourner pendant trois semaines à la glacière de la bile glycérinée à 5 p. 100; on y fait ensuite baigner les pommes de terre pendant trois heures. Les Bacilles tuberculeux poussent beaucoup mieux sur le milieu à bile homologue : Bacille humain sur bile humaine, Bacille bovin sur bile de bœuf, Bacille aviaire sur bile de poule.

Fig. 276. — Bacille de Koch ; culture sur pomme de terre glycérinée.

Organes (A. et F. Lumière). — Le foie ou la rate de bœuf ou de veau, après lavage, est cuit à l'autoclave (quarante-cinq minutes), puis découpé en fragments qu'on plonge une heure dans l'eau glycérinée à 6 p. 100; les fragments sont répartis en tubes à pommes de terre et stérilisés. La culture est abondante et débuterait après trente-six heures.

Bouillon glycériné (Nocard et Roux). — Il faut ensemencer à la surface, en ballon ou en matras. Le mieux est de prélever un large fragment du voile qui recouvre le liquide du fond dans les cultures sur pomme de terre glycérinée; on dépose ce voile à la surface du bouillon, en ayant bien soin de ne pas l'immerger ; le voile doit demeurer flottant.

La culture débute vers le quinzième jour, sous forme d'un voile mince qui entoure le fragment ensemencé. Le voile s'agrandit et s'épaissit peu à peu ; il recouvre bientôt toute la surface et grimpe sur les parois; il se plisse, demeurant le plus souvent sec; plus rarement, il est gras et humide. Le liquide reste toujours limpide.

Le Bacille bovin donne le plus souvent une culture moins abondante que le Bacille humain.

Lorsqu'une partie de la semence est immergée, il peut se développer au fond des grumeaux peu abondants.

Les cultures dégagent une odeur agréable.

Réaction du bouillon. — Les deux Bacilles neutralisent le milieu pendant les trois ou quatre premières semaines; dans la suite, le Bacille humain acidifie, alors que le Bacille bovin alcalinise (Th. Smith).

Variantes. — Pour faciliter le flottage de la semence, on peut disposer à la surface du bouillon une petite plaque de liège (P. Courmont) ou une très mince pellicule d'huile de vaseline (Gioelli).

Bouillon glycériné de la pomme de terre (Jurewitch). — On commence la préparation du bouillon comme d'ordinaire (p. 117, jusqu'au temps *e*); d'autre part, on laisse macérer dans son poids d'eau, pendant vingt-quatre heures, de la pomme de terre écrasée et tamisée, qu'on passe ensuite sur linge. On mélange les deux liquides et on opère ensuite comme pour le bouillon. Après le temps *i*, on ajoute 3 p. 100 de glycérine.

Caractères particuliers du Bacille aviaire. — Le Bacille aviaire se développe plus facilement, même en premières cultures; il pousse en outre sur bouillon ordinaire. Ses cultures sont en général humides et grasses, abondantes, présentant par ailleurs les caractères décrits ci-dessus; en bouillon glycériné, les grumeaux du fond sont parfois assez abondants. L'odeur paraît un peu aigrelette (Straus). Tous ces caractères sont contingents et peuvent appartenir aux autres types de bacille.

Cultures homogènes. — Arloing a pu habituer le Bacille tuberculeux à produire dans le bouillon un trouble *homogène* (comme le Bacille typhique). On part d'une culture habituée aux milieux artificiels et produisant une membrane grasse et humide sur pomme de terre glycérinée; on ensemence en bouillon glycériné, en ayant soin ensuite d'agiter le milieu tous les jours. Après un certain nombre de passages en bouillon glycériné, le bacille cultive en troublant uniformément le milieu; la culture, relativement précoce, peut être bien développée dès le deuxième jour. Les cultures bien entraînées se développent sous le même aspect en bouillon ordinaire.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — En cultures, le Bacille de Koch demeure vivant quelques mois.

Résistance à la chaleur. — Sa résistance à la chaleur est variable suivant les conditions de milieu.

Il résiste plus à l'état sec qu'à l'état humide, plus dans les produits morbides, où il est protégé par une gangue albuminoïde, que dans les cultures.

Le bacille des cultures est tué en dix minutes à 70° (Yersin); desséché, il résiste mieux : un chauffage de trois heures à 100° affaiblit la virulence, sans l'anéantir (Grancher et Ledoux-Lebard). Le bacille sporulé de Gavina résisterait plus que le bacille non sporulé.

Dans les crachats humides, le bacille n'est aucunement influencé par un chauffage à 71° pendant dix minutes (Galtier). La résistance dans le lait a été particulièrement étudiée, dans le but de fixer les conditions néces-

soires pour rendre le lait sûrement inoffensif, mais les résultats sont un peu variables. La plupart des auteurs admettent avec Forster que le Bacille de Koch est détruit en cinq minutes à 80° ou en dix minutes à 70° ; mais, d'autre part, on l'a vu résister à 80° pendant trente minutes (Beck) et à 70° pendant une heure (Basenau) : il faut remarquer que ces températures sont celles habituellement atteintes dans la pasteurisation. On comprend très bien, d'ailleurs, que le bacille résiste mieux quand le lait provient de bêtes atteintes de mammites tuberculeuses.

Résistance à la putréfaction. — Le Bacille de Koch résiste à la putréfaction : pendant vingt jours dans les tissus putréfiés (Galtier); pendant deux ans dans des cadavres enfouis (Schottelius).

Résistance à la dessiccation. — La résistance à la dessiccation est diversement appréciée. Les crachats desséchés seraient inoffensifs suivant certains auteurs : d'après Küss, ils conservent leur virulence pendant quinze jours à la lumière, dix-huit jours à l'obscurité.

Résistance dans l'eau. — Dans l'eau de Seine, le Bacille humain demeure vivant soixante-dix jours (Chantemesse et Widal); le Bacille aviaire, cent quinze (Straus et Dubarry).

Résistance aux antiseptiques. — Elle est faible dans les cultures, beaucoup plus marquée dans les excreta ou tissus. Le Bacille de Koch des cultures est détruit par l'acide phénique à 1 p. 100 en une minute (Yersin). D'après Koch, le cyanure d'or à dose infime, 1 p. 2 000 000, suffit à empêcher toute culture.

Dans les crachats, les antiseptiques non coagulants manifestent seuls quelque activité ; H. Vincent obtient la stérilisation en six heures avec la soude à 10 p. 100 et l'hypochlorite de chaux à 20 p. 100.

Réactions à l'égard des sérums. — I. Expérimentalement, le sérum des animaux inoculés présente des anticorps spécifiques : *agglutinine*, *sensibilisatrice*, *précipitine*. Ces anticorps sont particulièrement abondants chez les animaux vaccinés.

II. Chez l'homme tuberculeux, le sérum sanguin renferme également des agglutinines et des sensibilisatrices (Voy. plus loin, *Diagnostic de l'infection*).

III. Les Bacilles tuberculeux ne sont pas tous agglutinables. Avant de procéder à la recherche du pouvoir agglutinant d'un sérum, il faut donc au préalable vérifier l'aptitude agglutinative du microbe.

ACTION PATHOGÈNE.

Le Bacille de Koch est pathogène dans les conditions naturelles pour l'homme et pour beaucoup d'animaux.

Chez l'homme. — Le rôle du Bacille tuberculeux en pathologie humaine est énorme.

On ne se tromperait pas beaucoup en disant que tout être humain adulte est tuberculeux ; aux autopsies d'adultes, on constate la présence de lésions tuberculeuses chez la plupart des sujets, 80 p. 100, suivant les

estimations les plus modérées, 94 p. 100 (Strang) et même 100 p. 100 dans certains milieux.

Mais la majorité de ces lésions tuberculeuses sont latentes ; elles représentent, dans les trois quarts des cas, de simples reliquats d'une infection antérieure, localisée le plus souvent au sommet des poumons ou dans les ganglions trachéobronchiques ou mésentériques.

La tuberculose est de beaucoup la plus importante des causes de décès. En moyenne, et dans les villes, 20 à 25 p. 100 des décès lui sont directement attribuables.

La *forme clinique* de beaucoup la plus fréquente est la *phtisie*, ou tuberculose pulmonaire chronique, avec cavernes, abcès caséeux, tubercules, etc. La tuberculose aiguë, sous forme de granulie, de méningite tuberculeuse, de typho-bacillose (tuberculose sans lésions apparentes), est moins fréquente, sans être exceptionnelle. Il faut citer, en outre, les tuberculoses localisées les plus communes : tuberculose osseuse, articulaire, péritonéale, intestinale, génito-urinaire, cutanée (lupus), ganglionnaire, etc.

La tuberculose est presque toujours *acquise* : la transmission héréditaire est tout à fait exceptionnelle. Elle se propage à peu près exclusivement par contagion. C'est le plus souvent l'homme malade qui transmet la tuberculose à son entourage ; mais les documents accumulés dans ces dernières années démontrent que les tuberculoses animales, spécialement la tuberculose bovine, peuvent infecter l'homme.

Il existe plusieurs *portes d'entrée* de la tuberculose. Suivant les opinions, on accorde le plus d'importance à l'infection par inhalation ou à l'infection par ingestion : l'une et l'autre sont certainement fréquentes. On connaît, en outre, quelques exemples d'inoculation par voie cutanée et par voie génitale.

Chez les animaux. — Bovidés adultes. — La tuberculose des bovidés est en moyenne très répandue, mais son expansion varie beaucoup d'une région à l'autre.

En Europe, on peut évaluer de 10 à 20 p. 100 le nombre des bovidés adultes reconnus tuberculeux à l'abattoir ; mais les chiffres extrêmes sont très écartés, de 1 à 38 p. 100. L'emploi de la tuberculine révèle en outre un nombre énorme de tuberculoses latentes.

La tuberculose des bovidés évolue sous des formes diverses. Il faut signaler tout d'abord la plus fréquente, la tuberculose chronique à localisations multiples ; on trouve alors dans le poumon des masses saillantes à l'extérieur (*pommelière*), tantôt caséeuses, tantôt crétacées ; dans les plèvres et le péritoine, des sortes de tumeurs fibreuses ou fibro-crétacées étalées à la surface des séreuses, en forme de polypes ou de choux-fleurs (*maladie perlée, Perlsucht*) ; il existe souvent des altérations tuberculeuses du foie, de l'intestin (ulcérations), des ganglions.

L'évolution des formes chroniques peut être traversée par des poussées aiguës.

Veau. — La tuberculose est rare chez le veau, d'autant plus rare qu'on s'adresse à des animaux plus jeunes.

Porc. — La tuberculose du porc paraît devenir de plus en plus fréquente, surtout depuis que l'élevage industriel les nourrit de résidus de laiterie.

En France, elle est encore rare : mais elle sévit fortement en d'autres pays ; à l'abattoir, on trouve tuberculeux 4 à 5 porcs p. 100 en Allemagne, jusqu'à 30 p. 100 en Hollande.

Les formes les plus communes sont la tuberculose digestive, avec entérite tuberculeuse et tubercules dans le foie et les viscères abdominaux, et la forme ganglionnaire (scrofuleuse) ; des examens plus minutieux pratiqués dans ces dernières années amènent à penser que la tuberculose aiguë, avec peu ou pas de lésions, est également fréquente. Il existe, en outre, une forme articulaire.

Singe. — Dans nos climats, les singes meurent souvent de tuberculose, surtout pulmonaire ; 25 p. 100 des décès environ.

Chien. — Le chien est rarement atteint, 1 cas sur 100 à 200 animaux environ ; tuberculose chronique surtout pulmonaire.

Autres mammifères. — Le *cheval*, la *chèvre*, le *mouton*, le *chat* ne sont pas réfractaires à la tuberculose, mais se trouvent atteints beaucoup moins souvent que les espèces précédentes.

Les animaux de laboratoire, *lapin*, *cobaye*, *rat*, *souris*, ne sont guère atteints par la tuberculose : ils présentent, par contre, des pseudo-tuberculoses (chap. *Pseudo-tuberculoses*).

Oiseaux. — Chez la plupart des oiseaux, poule, pigeon, faisan, pintade, oiseaux de proie, etc., la tuberculose est fréquente ; aux Halles de Paris, on a trouvé 35 à 75 p. 100 de volailles tuberculeuses pour certaines provenances. L'oie et le canard paraissent seuls à peu près réfractaires.

La tuberculose des oiseaux est due généralement au Bacille aviaire. C'est presque toujours dans l'abdomen que siègent les lésions : tubercules caséeux ou crétacés dans le foie, la rate, la paroi intestinale ; le poumon est plus rarement intéressé.

Chez le perroquet, on observe, par contre, souvent la tuberculose pulmonaire, de même que de la tuberculose cutanée du bec.

Animaux à sang froid. — Voy. *Bacille pisciaire* (à la fin de ce chapitre).

Action pathogène expérimentale.

On peut reproduire expérimentalement toutes les lésions tuberculeuses.

I. Chez les animaux sensibles, les lésions sont le plus souvent apparentes, tubercules, abcès caséeux, etc. : c'est la *tuberculose type*

Villemin, décrite tout d'abord par Villemin à la suite de l'inoculation au cobaye de produits tuberculeux humains. Parfois il n'y a pas de lésions apparentes, mais les organes sont infiltrés de Bacilles : c'est la *tuberculose type Yersin*, signalée par Yersin chez les lapins soumis à l'inoculation intraveineuse de Bacilles aviaires. Presque toutes les inoculations aboutissent au type Villemin ; nous signalerons en temps utile les quelques exceptions ressortissant au type Yersin.

II. De même que tout autre microbe, le Bacille de Koch est inégalement virulent, mais les variations de virulence sont, au moins en partie, liées à des raisons saisissables.

Comme toujours, la dose intervient : 40 microbes d'une culture déterminée peuvent tuer le cobaye inoculé sous la peau ; une dose quatre fois plus forte tue toujours (Preyss). Il faut aussi tenir compte de l'âge des cultures ; anciennes, elles peuvent ne plus produire que de la sclérose, sans tubercules (Bezançon et Philibert).

Peut-être, comme le veulent Rodet et Delanoë, la virulence variable du bacille explique et, même, permettrait-elle de mesurer le degré de gravité clinique de la tuberculose pulmonaire humaine.

Mais c'est dans l'*adaptation du bacille aux diverses espèces animales* qu'on a trouvé l'explication la plus nette des variations dans la virulence. Ces bacilles, adaptés à l'homme, aux bœufs ou aux oiseaux, ne constituent pas, nous l'avons vu, des espèces distinctes, mais cela ne les empêche en aucune façon de se modifier un peu dans leurs qualités pathogènes.

Le Bacille bovin est le plus pathogène « pour tous les mammifères, y compris l'homme », a dit Behring, ce qui est au moins un peu exagéré. Il est manifestement le plus pathogène pour le lapin et pour les bovidés ; mais il est moins pathogène que le Bacille humain à l'égard du cobaye. La virulence du Bacille aviaire pour les mammifères et, inversement, la virulence des Bacilles des mammifères pour les oiseaux sont discutées.

III. La tuberculose a été très étudiée expérimentalement.

Beaucoup de recherches ont eu pour objectif d'élucider le mécanisme habituel de contagion de la tuberculose dans les conditions naturelles.

On sait qu'il s'est constitué sur ce point deux opinions différentes. Les uns pensent que la tuberculose est d'*origine digestive* et se transmet *par ingestion* (Behring, Calmette). Behring soutient en ce sens une opinion excessive, d'après laquelle toutes les tuberculoses de l'adulte ne seraient que le réveil d'anciennes lésions, d'origine digestive, sommeillant depuis l'enfance. D'autres, par contre, attribuent la contagion *à l'inhalation* de

poussières bacillifères, à l'état sec (Cornet) ou, le plus souvent, à l'état humide (Flügge). En fait, l'un et l'autre mode de contagion paraissent également très admissibles, comme nous le verrons en étudiant plus loin les effets de l'ingestion et de l'inhalation.

A côté de ces problèmes étiologiques, la tuberculose soulève incessamment d'autres problèmes dans une orientation différente : il s'agit de reconnaître la présence du Bacille tuberculeux, et éventuellement sa qualité, c'est-à-dire le type auquel il appartient. Dans ce but, on s'adresse à d'autres modes d'inoculation : sous-cutanée, intraveineuse, intrapéritonéale, etc.

Nous étudierons successivement :

Les modes habituels d'inoculation (injections sous-cutanée, intraveineuse, intrapéritonéale, etc.) ;

L'inoculation par ingestion ;

L'inoculation par inhalation.

A. Modes habituels d'inoculation. — *Cobaye.* — **1° Bacille humain.** — Le cobaye est le *réactif par excellence* du Bacille tuberculeux humain. On peut poser en principe que tout cobaye inoculé avec le Bacille humain ou avec des produits renfermant ce bacille contracte la tuberculose et y succombe.

Inoculation sous-cutanée. — Après inoculation sous-cutanée, il se forme généralement, pas toujours, au point d'inoculation un foyer de nécrose qui s'ouvre à l'extérieur (chancre tuberculeux) vers le dixième ou quinzième jour ; il persiste ensuite. Vers le quinzième ou vingtième jour, les ganglions correspondants se tuméfient. Puis l'animal maigrit et finalement succombe en un temps variable, un à quatre mois et même plus.

A l'autopsie, on trouve des lésions tuberculeuses étendues : la rate, brun jaunâtre, très grosse, est criblée de granulations ou de foyers caséeux ; des lésions analogues, un peu moins confluentes, se retrouvent sur le foie. Des tubercules gris ou blancs parsèment les séreuses, les reins et les poumons. Les ganglions correspondant au point inoculé sont ramollis et caséeux. Dans toutes les lésions, on trouve en abondance le Bacille tuberculeux. C'est le type de la tuberculose type Villemin.

Suivant la durée d'évolution, ce tableau peut varier un peu : si l'évolution est courte, ou si l'animal est sacrifié après un mois, on trouve seulement des lésions ganglionnaires et des granulations dans la rate et le foie. Si l'évolution est très lente, il peut exister une véritable cirrhose du foie.

Inoculation sur la conjonctive. — Calmette, Guérin et Grysez ont

montré qu'il suffit de laisser tomber sur le globe oculaire d'un cobaye une goutte d'émulsion de bacilles virulents, pour déterminer l'apparition d'une tuberculose ganglionnaire typique, d'abord locale (ganglion rétro-mastoïdien), puis généralisée. Dans sa première phase, cette maladie expérimentale ressemble beaucoup à la scrofule humaine. Elle évolue sans qu'il se produise la moindre lésion au niveau du globe oculaire.

Inoculation transcutanée. — Il suffit de badigeonner la peau rasée avec des produits tuberculeux pour tuberculiser le cobaye : mêmes lésions que ci-dessus; l'évolution est souvent un peu plus lente (Osman-Nouri, Courmont et Lesieur).

Inoculation intrapéritonéale. — La mort est plus rapide, en quelques semaines; péritonite adhésive avec éruption miliaire des organes abdominaux.

Chez le mâle, l'inoculation intrapéritonéale détermine souvent une vaginalite (Panisset).

Inoculation intramammaire. — Après inoculation dans la mamelle d'une femelle en lactation, les Bacilles commencent à apparaître dans le lait du huitième au quinzième jour (Nattan-Larrier).

2° **Bacille bovin.** — *Inoculation sous-cutanée.* — Elle ne tue pas toujours, à beaucoup près. Quand l'animal succombe, on trouve les mêmes lésions que ci-dessus.

3° **Bacille aviaire.** — Résultats très variables. D'après Lydia Rabinowitch, qui a étudié un grand nombre d'échantillons, l'inoculation au cobaye de lésions aviaires tuberculeuses reproduit le plus souvent la tuberculose type Villemin, exceptionnellement la tuberculose type Yersin. Les cultures, après plusieurs générations, agissent presque toujours comme les cultures du Bacille humain (Courmont et Dor).

Lapin. — Le lapin, peu sensible au Bacille humain, est plus sensible au bacille bovin (Villemin), plus sensible encore au Bacille aviaire (Yersin). La plupart des auteurs s'accordent actuellement pour admettre que le lapin constitue le meilleur réactif de laboratoire pour le diagnostic entre les Bacilles humain et bovin; la virulence du Bacille bovin pour le lapin est parallèle à la virulence pour les bovidés.

1° **Bacille bovin.** — L'*inoculation sous-cutanée* provoque un abcès local, suivi d'adénite; l'animal succombe en un à plusieurs mois. A l'autopsie, on trouve des tubercules ou des masses caséeuses dans les poumons et les reins, plus rarement dans les autres organes.

Après *inoculation intraveineuse*, la mort survient un peu plus vite (presque toujours avant deux mois); les lésions sont les mêmes.

A la suite de l'inoculation dans la *chambre antérieure de l'œil* (Cohn-

heim), le produit inoculé se résorbe d'abord ; vers le quinzième jour, apparaissent des granulations sur l'iris, puis la cornée est atteinte, et on peut assister à la fonte purulente de l'œil. Ensuite la tuberculose se généralise.

2° **Bacille humain.** — L'*inoculation sous-cutanée* ne détermine qu'un abcès local ; l'animal ne succombe presque jamais. Sacrifie-t-on l'animal, on ne trouve pas de lésions, ou bien de très rares granulations dans les poumons et les reins.

3° **Bacille aviaire.** — L'*inoculation intraveineuse* de Bacille aviaire détermine généralement la mort en deux à trois semaines; à l'autopsie, il n'existe pas de lésions apparentes, mais les organes fourmillent de bacilles (type Yersin). Des Bacilles moins virulents tuent moins vite ; on trouve alors les lésions apparentes habituelles.

L'évolution de la tuberculose sous le type Yersin n'est pas absolument spéciale au Bacille aviaire ; on peut la reproduire en inoculant de fortes doses de Bacille des mammifères (Grancher et Ledoux-Lebard).

Après *inoculation sous-cutanée*, l'évolution est plus lente ; les lésions se retrouvent sous les mêmes aspects. Il existe souvent en outre des localisations articulaires (Courmont et Dor).

Souris, surmulot. — *Même électivité que le lapin à l'égard du Bacille bovin* : l'inoculation sous-cutanée de ce dernier entraîne la mort en quatre ou cinq mois, avec lésions de la rate et du poumon : l'inoculation sous-cutanée du Bacille humain produit un abcès local suivi d'adénite, mais sans généralisation. Cette différence d'action serait constante à l'égard de la souris, de telle sorte que l'inoculation à la souris constituerait une excellente épreuve de différenciation (Beck).

Chien. — Sensible aux inoculations sévères de virus *humain* ou *bovin* : l'inoculation de bacilles très virulents, ou de fortes doses par les diverses voies, amène la mort avec les lésions habituelles du type Villemin.

Le chien est très résistant au Bacille *aviaire*, mais il n'est pas absolument réfractaire (Richet et Héricourt).

Bovidés. — Les Bovidés sont sensibles au Bacille du type *bovin*, que ce Bacille provienne des bovidés, du porc ou de l'homme. Suivant le degré de virulence et la dose, l'inoculation sous-cutanée ou intraveineuse produit une maladie aiguë ou une maladie chronique, avec lésions apparentes des viscères et des ganglions.

Les Bacilles du type *humain* ne sont que peu ou pas virulents.

Chèvre. — La chèvre paraît plus sensible au Bacille *bovin*, spécialement par ingestion (Voy. plus loin).

L'inoculation dans les trayons provoque de la mammite (Nocard).

Oiseaux. — Le *perroquet* est facilement infecté par voie sous-cutanée avec les *trois types* de Bacilles.

La *poule* est très sensible au *Bacille aviaire* ; l'ingestion de produits tuberculeux reproduit la maladie naturelle. L'inoculation intraveineuse amène le plus souvent une tuberculose aiguë sans lésions visibles (type Yersin).

Les réactions de la poule à l'égard des *Bacilles des mammifères* sont plus discutées. La poule y est incontestablement moins sensible qu'au Bacille aviaire. Néanmoins il est acquis que certains Bacilles des mammifères (la moitié des bacilles, d'après Bang) produisent par inoculation sous-cutanée une tuberculose type Villemin (Cadiot, Gilbert et Roger).

Animaux à sang froid. — Le Bacille humain tuberculise l'orvet (Mœller), parfois les serpents (*Varanus*, d'après Bertarelli) ; Morey aurait provoqué une tuberculose localisée au péritoine par inoculation intrapéritonéale à la carpe ou à la grenouille. Les autres espèces sont beaucoup moins sensibles (Voy. *Bacille pisciaire*).

Diagnostic des types humain et bovin par inoculation expérimentale. — *Inoculation intraveineuse au lapin.* — On inocule une culture de première ou seconde génération, sur œuf ou pomme de terre glycérinés, à quatre lapins de 1 500 à 2 000 grammes, dans les veines, à dose de 1 milligramme pour deux animaux, de un centième de milligramme pour les deux autres. Les animaux survivants sont sacrifiés après soixante jours. Dans ces conditions, le Bacille humain provoque des lésions discrètes, non progressives, localisées surtout dans le rein et le poumon ; au contraire, le Bacille bovin détermine une tuberculose généralisée (Park et Krumwiede).

De même, l'inoculation sous-cutanée de 50 milligrammes de bacilles humains *chez le bœuf* (Kossel, Weber et Heuss), ou l'introduction de ces mêmes bacilles dans la profondeur de la mamelle — sans léser la glande — *chez la chèvre* (Calmette et Guérin), déterminent seulement une lésion locale, alors que dans les mêmes conditions, les Bacilles bovins provoquent une tuberculose progressive qui se généralise.

β. **Inoculation par ingestion.** — Quel que soit l'animal en expérience et quel que soit le virus, les bacilles ingérés ont toujours tendance à se localiser sur les ganglions trachéobronchiques et sur les poumons (fait important, qui permet de comprendre que la tuberculose humaine, sous sa forme commune, phtisie pulmonaire, peut être d'origine digestive).

Mais l'ingestion ne provoque de lésions que chez les espèces les plus sensibles : cobaye pour le Bacille humain ; lapin, bœuf et chèvre pour le Bacille bovin ; lapin et poule pour le Bacille aviaire. Les espèces animales gardent ainsi à l'endroit des divers types de bacilels la sensibilité élective que nous connaissons.

Le *Bacille humain*, ingéré au cobaye, détermine souvent des lésions qui, d'abord localisées aux voies respiratoires, se généralisent ensuite; il n'existe pas de lésions locales de l'intestin (Veleminsky).

Le *Bacille bovin*, ingéré au lapin, se fixe de même sur le poumon, sans léser l'intestin (Veleminsky). Chez le bœuf, le Bacille bovin virulent détermine habituellement l'infection (Chauveau); les premières lésions apparaissent dans les ganglions trachéobronchiques (Calmette, Vallée).

L'espèce caprine a fourni à Calmette et Guérin des résultats particuliers : le chevreau, soumis à l'ingestion de Bacille bovin, contracte une tuberculose pulmonaire avec lésions apparentes des ganglions mésentériques; dans les mêmes conditions, le Bacille humain ou aviaire détermine des lésions des ganglions mésentériques, sans altération plus lointaine. Au contraire, chez la chèvre adulte, l'ingestion de Bacille bovin provoque des lésions d'emblée pulmonaires, sans lésion aux portes d'entrée.

La sensibilité du chien est discutée ; suivant F. Arloing, on provoque dans la moitié des cas des lésions intestinales, souvent suivies de lésions pulmonaires.

Le *Bacille aviaire*, chez le lapin, détermine une tuberculose d'abord intestinale, puis pulmonaire (Weber et Bollinger); il en est de même chez la poule.

C. **Inhalation.** — On peut transmettre la tuberculose par inhalation ; quelques auteurs ont réalisé l'infection à l'aide de poussières sèches (Cornet), mais les résultats paraissent plus réguliers quand on s'adresse aux particules liquides finement pulvérisées.

Il semble établi, d'autre part, que la quantité de bacilles nécessaires pour infecter l'animal est moindre pour l'inhalation que pour l'ingestion.

Chez le cobaye, les expériences de Cornet, de Preyss, de Küss et Lobstein ont déterminé presque toujours une tuberculose localisée ou prédominante au poumon. Des essais de même ordre ont été tentés avec succès chez le chien (Tappeiner), chez le chat (Chaussé), chez les bovidés (Nocard et Rossignol, Chaussé).

SIÈGE.

Le Bacille tuberculeux, agent pathogène d'affections multiples et chez nombre d'espèces animales, est extrêmement répandu.

I. **Dans l'organisme humain ou animal.** — Le Bacille de Koch se trouve dans les lésions tuberculeuses, granulations, nodules ou infiltrations caséeuses; on sait que chacune de ces lésions est

essentiellement formée par un nombre plus ou moins grand de *follicules tuberculeux* : chaque follicule comprend au centre une *cellule géante* (80 μ en moyenne) avec noyaux multiples en bordure, entourée de cellules épithélioïdes et, plus loin, de globules blancs ; les Bacilles existent dans les trois zones, spécialement dans les cellules géantes (fig. 277). On les trouve également dans les lésions caséeuses, qui ne sont d'ailleurs que l'aboutissant des lésions précédentes (fig. 278) ; de même dans le pus tuberculeux. — Dans les tuberculoses sans lésions apparentes, la structure histologique des tissus est également celle que nous venons d'indiquer (follicule avec bacilles).

La présence dans le sang est exceptionnelle, aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Le Bacille de Koch peut y circuler (surtout dans les tuberculoses aiguës), mais il ne s'y multiplie pas.

Issu des lésions précédentes, le Bacille passe dans les excreta : crachats et urines chez l'homme, jetage des bovidés, matières fécales dans les diverses espèces, etc.

II. **En dehors de l'organisme.** — Au point de vue pratique, il importe de connaître les possibilités d'infection.

Les bacilles existent dans l'*air* des salles d'hôpitaux, comme on peut s'en assurer en inoculant aux animaux l'air filtré (Cadéac et Malet), ou en laissant vivre des cobayes dans les salles de malades (Cartel) : dans les deux cas, les animaux se tuberculisent rapidement. Il semble vraisemblable d'admettre avec Flügge et son école (Lawtchenko, Heyman, etc.) que l'infection est réalisable surtout par les *gouttelettes* infectantes de mucus laryngé ou pharyngé que chacun projette à toute expiration un peu vive, efforts de toux, simple parler même à voix basse : ces gouttelettes restent en suspension une ou plusieurs heures ; elles sont, d'autre part, projetées jusqu'à 4 ou 6 mètres de distance et plus.

Parmi les *aliments*, on pouvait craindre tout d'abord que la *viande* d'animaux tuberculeux fût très dangereuse, mais il a été nettement établi que la viande est très rarement virulente, même en cas de tuberculose généralisée. Il n'en est pas de même du *lait* ; ce dernier est infecté le plus souvent par suite d'une lésion tuberculeuse des mamelles, ou par l'introduction des matières virulentes répandues sur les litières. La proportion des laits tuberculeux est considérable, parfois 30 p. 100.

TOXINE.

Toxicité des bacilles morts. — Straus et Gamaleia ont constaté que des bacilles, tués par la chaleur, produisent un abcès par inoculation sous-cutanée. Les mêmes bacilles tués, inoculés dans les veines du lapin, provoquent la formation de tubercules caséeux dans le poumon. Il est ainsi établi que les bacilles morts demeurent toxiques.

Les bacilles privés de leurs substances grasses sont moins toxiques. Il tuent à forte dose ; une dose moindre produit des lésions caséeuses avec réactions générales, mais l'animal se rétablit (Cantacuzène).

Poisons extraits par les dissolvants des graisses. — En traitant les bacilles par l'éther et le chloroforme, Auclair a obtenu deux poisons différents, qu'il appelle éthéro-bacilline et chloroformo-bacilline : tous deux ont une action surtout locale ; le premier produit des lésions caséeuses (pneumonie caséeuse par inoculation trachéale), le second des lésions fibreuses (sclérose pulmonaire).

Poisons diffusibles. — Les diverses tuberculines renferment à la fois des poisons adhérents et des poisons diffusibles. On a cherché à mettre en évidence les poisons diffusibles seuls.

Le procédé communément employé consiste à filtrer sur bougie les cultures en bouillon glycériné, sans faire subir au produit de manipulation spéciale. Le filtrat ainsi obtenu est nettement toxique ; concentré au dixième, il est plus toxique que la tuberculine ancienne ; mais, contrairement à cette dernière, il provoque de l'hypothermie (à dose non mortelle) chez l'animal sain ou tuberculeux (Bezançon et Gouget). Ces poisons diffusibles sont moins thermostabiles que la tuberculine (détruits à 100°). La tuberculine de Denys (préparation B. F.) n'est que la préparation obtenue comme il vient d'être dit.

Tuberculines. — On donne le nom générique de *tuberculines* à toute une série de préparations qui représentent des extraits de cultures de Bacille tuberculeux ; la plupart d'entre elles possèdent sensiblement les mêmes propriétés. La mieux étudiée est la tuberculine ancienne de Koch.

Tuberculine ancienne de Koch (ou *Alttuberculin*, *Tuberculine brute*, ou simplement *Tuberculine*). — Sous le nom de *lymphe*, Koch (1890) prépare ainsi son ancienne tuberculine : des cultures de cinq à six semaines, en voile, sur bouillon glycériné, sont stérilisées par chauffage à 110° pendant une demi-heure, puis concentrées au bain-marie au dixième de leur volume primitif ; on filtre ensuite grossièrement sur papier épais, pour séparer les corps microbiens. Le filtrat constitue la tuberculine brute. C'est un liquide brunâtre, sirupeux, limpide, d'odeur agréable.

On voit que, dans cette préparation, la glycérine (non volatile) se concentre à 50 p. 100 ; la tuberculine comprend donc un extrait glycériné de bacilles mélangé à des produits microbiens diffusés dans le bouillon et aux principes constituants du milieu.

Le principe actif de la tuberculine est très résistant à la chaleur ;

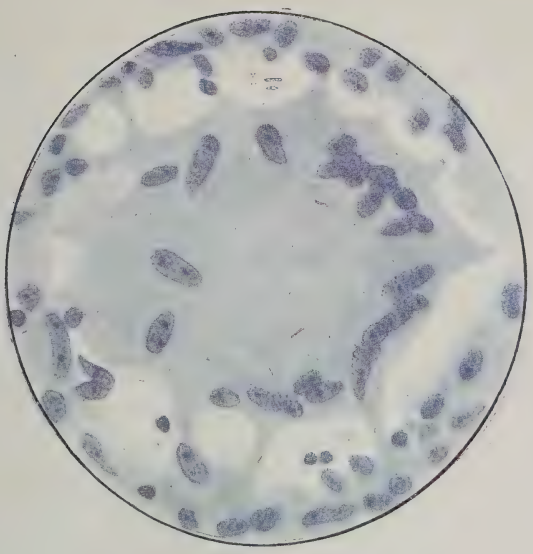


Fig. 277. — Cellule géante tuberculeuse avec Bacilles de Koch.

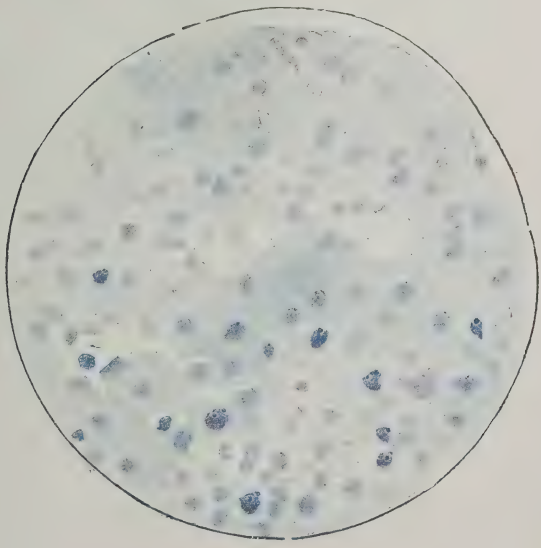


Fig. 278. — Bacilles de Koch dans un tissu caséifié.

il n'est détruit qu'à 250°. Par contre, la tuberculine est très sensible à l'oxygène de l'air, qui l'altère en quelques jours; il faut la conserver en pipettes scellées, à l'abri de la lumière et de la chaleur.

On n'est pas nettement fixé sur les rapports qui existent entre l'activité des tuberculines et les propriétés des Bacilles qui les ont fournies. Suivant Krompecher, l'activité de la tuberculine serait parallèle à la virulence du microbe. D'autre part, les Bacilles bovins et humains donnent une tuberculine qui paraît identique; certains auteurs (Irimescu) généralisent davantage et identifient les tuberculines humaine, bovine, aviaire et pisciaire; mais il semble établi que les tuberculines aviaire (Borrel) et surtout pisciaire (Pinoy et Burnet) sont moins actives que les deux autres sur la tuberculose des mammifères.

Réactions provoquées par la tuberculine. — La tuberculine provoque des réactions particulières; *ces réactions sont beaucoup plus marquées chez les tuberculeux que chez les sujets sains.*

Chez les animaux indemnes de tuberculose, on peut inoculer sans danger sous la peau des doses relativement élevées : 2 centimètres cubes chez le cobaye; $0^{cc},5$ à 2 centimètres cubes chez les autres animaux, bœuf, cheval, chien, etc. L'homme, à l'état normal, est plus sensible : une dose de $0^{cc},01$ peut provoquer de la fièvre; une dose de $0^{cc},25$ (Koch, sur lui-même) a fait apparaître de l'asthénie, de la dyspnée, puis un frisson, des vomissements et de la fièvre. Cette susceptibilité de l'homme est due sans doute à l'extrême fréquence des foyers latents de tuberculose.

Chez les tuberculeux (homme ou animal), la tuberculine amène des réactions à doses bien plus faibles. Le cobaye tuberculeux succombe à l'inoculation de $0^{cc},5$. Des doses minimes, $0^{gr},0002$ (2 dixièmes de milligramme) chez l'homme, $0^{gr},30$ à $0^{gr},40$ chez les bovidés, amènent une réaction spéciale. Cette réaction apparaît en général huit à douze heures après l'inoculation; elle se traduit par des phénomènes généraux et locaux. Les phénomènes généraux sont surtout appréciables par l'élévation de température. Localement, au niveau des lésions tuberculeuses, il se produit une congestion très vive; les lésions cutanées (lupus) se nécrosent parfois.

La tuberculine, en raison même de son action élective chez les tuberculeux, a été proposée pour le diagnostic de la tuberculose et aussi pour le traitement (Voy. plus loin).

Inoculation intracérébrale. — Borrel, Lingelsheim ont montré que le cobaye, assez peu sensible à l'inoculation sous-cutanée, est infiniment plus sensible à l'inoculation intracérébrale; mais on retrouve les mêmes différences numériques entre les doses mortelles chez l'animal sain et l'animal tuberculeux : 3 à 4 milligrammes sont nécessaires pour tuer le

cobaye sain, alors que le cobaye tuberculisé depuis quarante jours environ succombe à l'injection de 1 millième de milligramme de tuberculine humaine ou bovine (la tuberculine aviaire n'a pas la même propriété). Chose curieuse, le cobaye tuberculeux devient très sensible à l'injection intracérébrale de malléine (mais non à l'inoculation sous-cutanée); il conserve sa sensibilité habituelle à l'égard des autres toxines, tétanique, diphtérique, etc.

Tuberculine précipitée. — Les principes actifs de la tuberculine sont précipitables par l'alcool.

L'Institut Pasteur de Paris prépare, pour usage médical, des solutions mères de tuberculine solide purifiée (mélange de tuberculines humaine, bovine, équine) ; le précipité alcoolique, desséché, se conserve très longtemps. Les solutions mères sont préparées en dissolvant le précipité sec dans l'eau glycérinée à 50 p. 100. A poids égal, la tuberculine de l'Institut Pasteur est environ 30 fois plus active que la tuberculine brute (Küss); il faut donc l'employer à doses environ trente fois moindres.

Calmette concentre dans le vide les cultures en bouillon glycériné et précipite par l'alcool-éther.

Autres tuberculines. — Koch a modifié à plusieurs reprises sa tuberculine primitive; le but de ces recherches était surtout de trouver un principe qui fût actif dans le traitement de la tuberculose, sans susciter les réactions de la tuberculine ancienne; ce but n'a pas été atteint. Nouvelles préparations de Koch : TA, TR, Émulsion bacillaire.

Tuberculine TA. — Tuberculine alcaline, obtenue par filtration d'émulsions bacillaires laissées trois jours en contact avec 10 p. 100 de soude. Agit comme l'ancienne tuberculine.

Tuberculines TR et TO. — On triture dans des appareils spéciaux des Bacilles desséchés par le vide, jusqu'à obtenir une poudre extrêmement fine ; on additionne d'eau, et on centrifuge : le liquide surnageant, opalescent, est la TO.

Le dépôt boueux restant après décantation est repris, séché, broyé, additionné d'eau et centrifugé ; le dépôt restant après cette deuxième opération est repris, séché, broyé, etc., comme ci-dessus ; on continue le cycle jusqu'à ce que la masse à peu près entière des bacilles soit émulsionnée. — Tous les liquides de centrifugation (sauf le premier, qui est TO) sont mélangés : le mélange constitue la TR (tuberculine résiduelle). Il renferme des granulations très petites, qui ne sont plus acido-résistantes, bien que venant des bacilles.

TO est à peu près identique à la tuberculine ancienne, TR a été donné par Koch comme immunisant et curateur, mais en pratique TR a paru assez dangereux (abcès, hémoptysies, etc.) ; on ne l'emploie guère. Au point de vue du diagnostic, TR ne vaut pas l'ancienne tuberculine (Bonhiol).

Émulsion bacillaire (B. E., *Neutuberkulin*). — Ce nouveau produit de Koch est constitué par une émulsion de bacilles; on dessèche et pulvérise les bacilles (comme pour TR), et la poudre obtenue est simplement émulsionnée dans l'eau glycérinée à 50 p. 100, à dose de 1 p. 200. L'émulsion bacillaire préparée par Borrel, plus forte, renferme 3 centimilligrammes de substance bacillaire par millimètre cube; Küss recommande de l'employer à doses environ cinq fois moindres que la tuberculine précipitée.

Cette émulsion est assez employée en thérapeutique.

Tuberculine de Béraneck. — C'est un mélange de toxine-bouillon (TB) et d'acido-toxine (AT). On prépare TB en filtrant des cultures sur macération de viande glycérinée et réduisant ensuite le filtrat par évaporation dans le vide; on obtient AT en laissant macérer les corps microbiens à 60° pendant deux heures dans l'acide orthophosphorique à 1 p. 100; on neutralise ensuite. Le mélange de AT et TB, dilué au 1/20, constitue la tuberculine de Béraneck. Elle est assez utilisée, surtout en Suisse.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

On peut chercher à établir le diagnostic bactériologique de la tuberculose par des méthodes directes ou par des méthodes indirectes.

Les *méthodes directes* ont pour but de constater la présence du bacille, par examen direct, par les cultures ou par l'inoculation. Elles sont applicables toutes les fois qu'on se trouve en présence d'une lésion tuberculeuse ouverte, ou au moins accessible aux moyens d'investigation.

Les *méthodes indirectes* sont basées soit sur l'action spéciale de la tuberculine, soit sur la recherche des anticorps spécifiques (agglutinine, sensibilisatrice, précipitine) dans les humeurs des malades. Elles ont été préconisées surtout pour les circonstances où les méthodes directes ne sont pas applicables.

Seules les méthodes directes, bien appliquées, peuvent donner une certitude. La valeur des méthodes indirectes est plus discutée.

Méthodes directes.

Observations générales. — Coloration. — Dans le cas le plus habituel, examen de crachats riches en bacilles, on peut employer l'une ou l'autre des méthodes de coloration décrites plus haut.

Il n'en est pas de même dans la plupart des autres circonstances;

il faut se méfier des bacilles paratuberculeux, qui sont acido-résistants comme le Bacille de Koch. Cette remarque s'applique particulièrement aux urines et aux produits examinés après homogénéisation (crachats, caillots) ; on utilisera alors la technique de Ziehl-Neelsen : la plupart des bacilles paratuberculeux se décolorent, alors que le Bacille de Koch reste coloré.

Cultures. — Pratiquement, le diagnostic par les cultures ne peut être porté qu'en présence de lésions assez riches en bacilles et ne renfermant que peu ou pas d'autres microbes (sérosités).

Inoculation. — C'est la méthode de choix; mais ses réponses sont tardives. On inoculera les produits suspects au cobaye : sous la peau, s'ils sont impurs (crachats, urines); dans le péritoine, s'il n'existe pas d'autres microbes associés pathogènes pour le cobaye (pus, sérosités, dans la plupart des cas). L'inoculation de produits impurs dans le péritoine tuerait rapidement, par péritonite banale.

On peut sacrifier l'animal après cinq à six semaines. Pour affirmer la tuberculose, il faut : 1° constater la présence de lésions tuberculeuses à distance, au moins dans la rate et le foie; 2° s'assurer (coloration) que les lésions trouvées à l'autopsie renferment le Bacille de Koch. Cette double épreuve permet d'éliminer les bacilles paratuberculeux, qui sont généralement peu pathogènes par le procédé indiqué, et les pseudo-tuberculoses spontanées du cobaye, qui ne renferment pas de bacilles acido-résistants.

Applications des méthodes directes au diagnostic de la tuberculose. — Ces applications seront traitées aux chapitres des « analyses bactériologiques ». Voir entre autres : *Analyse des crachats* ; *Analyse du pus* ; *Analyse du sang* ; *Analyse des sérosités ; Analyse du liquide céphalo-rachidien.*

Méthodes indirectes.

A. **Diagnostic par la tuberculine.** — On a cherché à tirer parti des réactions provoquées par la tuberculine chez les tuberculeux pour établir le diagnostic de la tuberculose.

1. **Chez l'homme.** — Les observations accumulées sur ce sujet ont montré que la méthode est presque toujours fidèle, mais parfois trompeuse et toujours délicate. Elle est fidèle, en ce sens qu'une réaction positive indique à peu près sûrement l'existence d'une lésion tuberculeuse, mais cette lésion peut être tout à fait silencieuse et sans relation avec les incidents pathologiques qui ont motivé la recherche, de telle sorte que cette réaction positive peut alors induire en erreur. La méthode est délicate, car elle peut tou-

jours susciter des accidents sérieux avec des doses insignifiantes, inférieures aux doses habituellement employées. Il semble d'ailleurs que les tuberculeux avancés soient moins sensibles à la tuberculine que les tuberculeux au début.

Chez les enfants, cette méthode donne des résultats plus sûrs, ce qui s'explique par le fait que les enfants présentent rarement des foyers tuberculeux torpides.

Injection sous-cutanée. — C'est la méthode la plus habituelle; on considère comme positive toute réaction caractérisée par une ascension thermique d'un degré au moins (Grasset et Vedel). Mais la sensibilité à la tuberculine est très variable suivant les sujets; la dose nécessaire oscille, pour l'adulte, entre $0^{mg},1$ et 10 milligrammes de tuberculine ordinaire.

Les deux méthodes les plus employées sont les suivantes :

a. *Doses progressivement croissantes.* — A la suite de Koch, la plupart des auteurs injectent des doses progressivement croissantes, tous les trois ou quatre jours : on n'augmente la dose que si l'injection précédente est restée sans aucun effet. Koch donne la gradation suivante, en milligrammes de tuberculine ordinaire : 0,1 à 1 ; 0,2 à 2 ; 5; 10 ; 10. Grasset et Vedel injectent d'abord 2 à 3 dixièmes de milligramme ; puis, s'il n'y a pas eu réaction, 5 dixièmes.

b. *Petites doses réitérées.* — On a observé (Lœwenstein, Turban) que l'inoculation de très petites doses provoque de l'hypersensibilité à la tuberculine; cette hypersensibilité apparaît rapidement chez les tuberculeux, dès la troisième ou quatrième inoculation, alors qu'elle se manifeste seulement à la septième chez les sujets sains. On portera donc le diagnostic de tuberculose si la réaction apparaît avant la cinquième inoculation. La dose d'inoculation est de 1 dixième de milligramme.

Dans le but d'éviter les accidents observés à la suite des inoculations précédentes, on a proposé d'autres modes de tuberculinisation.

Cuti-réaction (von Pirquet). — On pratique une scarification superficielle à la région deltoïdienne ; on dépose ensuite 1 goutte de tuberculine diluée au quart sur le trait de scarification. Chez les tuberculeux, il apparaît en quelques heures (dix heures en moyenne) une papule entourée d'une auréole érythémateuse, qui augmente pendant un ou deux jours, puis s'affaisse et se dessèche. Chez les non-tuberculeux, de même que dans les formes aiguës de tuberculose, la réaction fait défaut.

Ophtalmo-réaction (Calmette, Wolff-Eisner). — Instillée sur la conjonctive, la tuberculine détermine chez les tuberculeux une congestion plus ou moins intense, très apparente après quelques heures. Chez les non-tuberculeux la réaction est absente.

On emploie la tuberculine purifiée, diluée à 1 p. 100 (Calmette) ou à 0,25 à 0,40 p. 100 (Küss). Il faut éviter la tuberculine ordinaire, dont la glycérine est irritante.

Cette méthode est particulièrement démonstrative, mais elle a provoqué parfois des accidents oculaires sérieux.

Autres modes d'inoculation — On a proposé d'autres modes d'inoculation : dans le derme (intradermo-réaction, Mantoux) ; dans le nez (rhino-réaction, Laffite-Dupont et Molinier) ; dans le vagin (Richter) ; à la surface de la peau, sans scarification, par frottement (Lignières), ou en maintenant vingt-quatre heures un tampon imbibé de tuberculine à 1 p. 100 en contact avec la peau (Lautier).

II. **Chez le bœuf.** — Depuis les recherches de Nocard et de Bang, la tuberculine est largement utilisée pour le diagnostic de la tuberculose des bovidés. La méthode est quelquefois en défaut (Arloing, Rodet et Courmont), mais il est incontestable qu'elle a rendu et continue à rendre des services considérables à la prophylaxie.

L'intensité de la réaction n'est pas en rapport avec la gravité ou l'étendue des lésions ; au contraire, les réactions peuvent être nulles chez des sujets très tuberculeux, et elles se montrent souvent les plus nettes quand les lésions sont très limitées (Nocard).

Il faut inoculer chez les adultes 20 à 50 centigrammes (suivant la taille) de tuberculine brute : chez les veaux, 10 à 20 centigrammes. L'animal est au préalable mis au repos pendant plusieurs jours ; on prend la température matin et soir. Après l'inoculation, la température est prise aux douzième, quinzième, dix-huitième et vingt et unième heures. Une ascension thermique de 1°,5 ou plus (parfois 3°) indique la tuberculose.

Si l'ascension est comprise entre 0°,8 et 1°,4, l'animal est simplement suspect ; il faut recommencer après un mois.

Les injections de tuberculine ne créent pas d'accoutumance aux inoculations ultérieures, comme on l'avait cru tout d'abord ; mais, chez les animaux qui ont été ou qu'on suppose avoir été (dans un but de fraude) déjà inoculés antérieurement, il est bon d'injecter des doses doubles, et il est de plus nécessaire de prendre la température à partir de la deuxième heure, la réaction thermique étant plus précoce que chez les animaux neufs (Vallée).

La *cuti-réaction* et l'*ophtalmo-réaction* (Vallée), de même que l'*intradermo-réaction*, peuvent être appliquées aux bovidés ; elles donnent les mêmes résultats que l'injection.

B. **Sérodiagnostic (agglutination).** — Les cultures habituelles ne se prêtent pas à l'obtention des émulsions homogènes nécessaires pour l'agglutination. Celle-ci n'est guère possible qu'à l'aide des cultures homogènes. Nous résumerons la technique telle qu'elle est préconisée par S. Arloing et P. Courmont, auteurs de la méthode.

a. Les cultures homogènes sont obtenues comme il a été dit plus haut ; on s'adresse à des Bacilles bien agglutinables (Bacille A d'Arloing). On ensemence en bouillon glycériné ou en peptone glycérinée (peptone

Defresne, 2; glycérine, 5; NaCl, 1, p. 100 d'eau), dans des fioles cylindriques, à moitié remplies. On agite tous les jours.

Vers le trentième jour, les cultures, blanc laiteux, très riches, sont enlevées de l'étuve et conservées au froid et à l'obscurité. La culture ainsi conservée demeure utilisable pendant un mois environ. Au moment du besoin, on la dilue dans l'eau physiologique ; le degré de dilution est variable, en moyenne 1 p. 50 : la dilution doi être telle que l'agglutination se produise au taux voulu par un sérum étalon (sérum d'animal inoculé ou sérosité tuberculeuse), conservé comme modèle au laboratoire.

b. L'épreuve est avant tout *macroscopique*. On dispose des petits tubes à essais ; dans chacun d'eux on verse X gouttes de culture diluée. L'un demeure sans sérum (tube témoin) : aux trois autres, on ajoute respectivement I, II et III gouttes de sérum sanguin ou de sérosité. On mélange par agitation, et on place ensuite les tubes dans un support, inclinés à 45° environ. On abandonne à la température ambiante.

Il est prudent de faire les mêmes dilutions avec le sérum étalon.

c. Après trois à cinq heures, on observe les tubes à l'œil nu. Est déclarée positive toute agglutination indiscutablement complète, avec clarification du liquide et formation de flocons bien apparents.

Résultats obtenus. — La plupart des auteurs confirment les résultats d'Arloing et de Courmont. Le sérum humain normal n'agglutine pas à 1 p. 5 chez l'adulte, à 1 p. 3 chez l'enfant. Le sérum des tuberculeux au début, ou des individus présentant des lésions bénignes ou discrètes, agglutine le plus souvent de 1 p 5 à 1 p. 15 ; mais le sérum est souvent dépourvu de pouvoir agglutinant dans les tuberculoses avancées ou dans les tuberculoses à marche rapide.

Par contre, le sérum des typhiques agglutine le Bacille tuberculeux, et d'une manière plus intense que le sérum des tuberculeux eux-mêmes (Bezançon Griffon et Philibert).

Les sérosités tuberculeuses (pleurésie, péritonite) sont également agglutinantes, sensiblement aux mêmes taux que les sérums (P. Courmont).

Chez les sujets traités par la tuberculine, surtout par l'émulsion bacillaire, le pouvoir agglutinant augmente notablement (Koch).

Valeur pratique de la réaction. — La valeur clinique du sérodiagnostic est très discutée ; la méthode n'a d'ailleurs pas réussi à s'imposer jusqu'ici. Des observations publiées, il semble qu'on puisse conclure :

1° Que la recherche de la réaction agglutinante du sérum sanguin a surtout une valeur *négative*, en ce sens que l'absence de réaction agglutinante, chez un sujet non fébricitant, constitue un élément de forte probabilité contre le diagnostic de tuberculose ; 2° que les sérosités agglutinantes (pleurésie, etc.) sont d'origine tuberculeuse.

Séro-pronostic. — D'après P. Courmont, le pronostic des pleuré-

sies tuberculeuses est d'autant meilleur que le pouvoir agglutinant est plus élevé, et inversement.

C. **Diagnostic par l'épreuve de la déviation du complément.** — Widal et Lesourd, Camus et Pagniez ont montré que le sérum des tuberculeux renferme une sensibilisatrice spécifique, mise en évidence par la réaction de Bordet-Gengou. Nous étudierons successivement la *technique* de la réaction et sa *valeur pratique*.

Technique de la réaction. — La réaction sera pratiquée suivant les règles générales en pareil cas (V. chap. IV et chap. *Syphilis*). On aura soin en particulier de toujours inactiver (par chauffage ou vieillissement) les sérums à étudier ; de toujours titrer l'alexine et le sérum hémolytique.

Quel antigène faut-il employer ?

Il semble établi que ni la tuberculine, ni les corps bacillaires morts ou vivants, ne constituent des antigènes de valeur fixe. Il est préférable de s'adresser aux antigènes préparés suivant l'un des deux procédés suivants :

Soit l'antigène B^2 de Calmette et Massol : 5 grammes de bacilles lavés, pesés à l'état sec, sont mis à macérer pendant quarante-huit heures à 65°, dans 100 centimètres cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100 dans l'eau distillée ; on filtre ensuite. Le filtrat constitue l'antigène B^2 ;

Soit l'antigène de Besredka : Des cultures de Bacille tuberculeux en bouillon à l'œuf de Besredka, après trente jours d'étuve, sont stérilisées à 115° et filtrées. Le filtrat constitue l'antigène.

Une fois l'antigène ainsi obtenu, on emploiera de préférence la technique de Calmette et Massol.

Pour chaque sérum, il faut trois séries de tubes.

La première série, A, comporte trois tubes, qui reçoivent chacun une dose fixe d'antigène (par exemple, 1 centimètre cube de l'antigène B^2 dilué au dixième).

La deuxième série, B, comporte trois tubes, qui reçoivent chacun 0cc,5 du sérum à étudier.

La troisième série, C, comporte au moins cinq tubes. Chacun d'eux reçoit à la fois la dose d'antigène de la série A et la dose de sérum de la série B.

Dans chaque tube de chaque série, on ajoute ensuite des doses croissantes d'alexine, en débutant par le double de la dose minima susceptible de provoquer l'hémolyse en présence de sérum hémolytique inactivé (dose minima déterminée par le titrage de l'alexine). Par exemple, 0cc,01, 0cc,02, 0cc,03, 0cc,04, 0cc,05. On complète partout à 2cc,5 par addition d'eau physiologique à 8,5 p. 1000.

Les tubes sont ensuite portés à 37° pendant une heure. On ajoute alors dans chaque tube une goutte d'hématies lavées, et une quantité de sérum hémolytique représentant 10 à 20 fois la dose hémolytique minima (déterminée par titrage). Chaque tube est alors complété à 3 centimètres cubes par addition d'eau physiologique, puis porté à l'étuve à 37° pendant une heure.

On constate les résultats.

Partout où il n'y a pas d'hémolyse, l'alexine est déviée.

La réaction est positive, c'est-à-dire démontre la présence d'anticorps dans le sérum, si la quantité d'alexine déviée par la série C (antigène + sérum) est supérieure à la somme des quantités d'alexine déviées par les séries A et B (antigène et sérum employés séparément).

Valeur pratique de la réaction. — La plupart des observateurs s'accordent à reconnaître que la réaction de fixation, à condition qu'on ait fait usage d'un antigène convenable, est habituellement positive chez les tuberculeux avérés, habituellement négative chez les sujets sains.

Chez les tuberculeux, la réaction est, au début de l'infection, le plus souvent négative. Dans la deuxième période de l'infection, la réaction est positive dans la grande majorité des cas, 70 à 90 p. 100 en moyenne. A la fin de la maladie, la réaction peut à nouveau devenir négative.

D'après Bezançon et de Serbonnes, la courbe de la réaction est oscillante, sans doute en rapport avec les poussées évolutives qui marquent l'évolution de la tuberculose.

De l'ensemble des observations, on peut conclure avec Calmette, qu'une réaction de fixation positive indique toujours une forme évolutive de la maladie.

D. **Diagnostic par la précipito-réaction.** — Au cours des méningites tuberculeuses, le liquide céphalo-rachidien précipite en dix à douze heures, quand on le met en présence de la tuberculine, 1 p. 100 de liquide (Vincent et Combes); on obtient d'ailleurs le même résultat chez les typhiques et les syphilitiques. La réaction a une valeur négative : son absence permet d'écarter le diagnostic de tuberculose.

Le sérum sanguin, à l'état normal, précipite souvent les filtrats de cultures ; il ne peut donc être utilisé pour le précipito-diagnostic.

VACCINATION.

Quelques expériences de Grancher et Martin, Richet et Héricourt avaient montré que l'inoculation de cultures atténuées par vieillissement ou chauffage pouvait conférer aux animaux de laboratoire un certain degré de résistance, mais c'est surtout depuis les recherches de Behring (1912)

que la question de la vaccination antituberculeuse a suscité un grand nombre d'expériences et de discussions. Les travaux les plus importants visent la *tuberculose des bovidés*, ce qui s'explique tant par la fréquence et l'importance (économique et sanitaire) de cette maladie que par l'analogie étroite de la tuberculose des bovidés avec celle de l'homme : une méthode de vaccination sûre et inoffensive pour les bovidés trouverait peut être son application à l'homme. Dans l'état actuel des choses, nous devons étudier surtout la vaccination chez les bovidés.

Vaccination chez les bovidés. — On a tenté de vacciner les animaux par divers procédés : inoculation de bacilles morts, inoculation des produits solubles, inoculation de bacilles vivants.

Inoculation de bacilles morts. — L'inoculation de bacilles morts, quels que soient les procédés de destruction des bacilles (chaleur, iode, etc.) et la voie d'introduction du vaccin, a presque toujours donné chez les bovidés des résultats nuls ou insignifiants (Vallée). L'inoculation de bacilles tués par le chlore (Moussu et Goupil) ou le fluorure de sodium (Rappin) aurait cependant conféré un certain degré d'immunité.

Inoculation des produits solubles. — Le procédé a été employé largement en pratique par Heymans ; on insère sous la peau des bovidés des sacs de collodion renfermant des cultures; les animaux seraient vaccinés. Moussu, par un procédé analogue, n'a pas obtenu de résultat appréciable.

Vaccination par les bacilles vivants. — Seule l'inoculation de bacilles vivants est capable de conférer aux animaux une certaine résistance. Mais cette résistance n'équivaut pas à une vaccination ; en raison, en effet, de leur constitution très spéciale, les Bacilles tuberculeux inoculés ne se résorbent qu'avec une très grande lenteur, même chez les animaux rendus très résistants par des inoculations préalables de virus atténués ou de virus à petites doses. Quelle que soit la méthode employée, on constate toujours :

1° Que les bacilles inoculés comme vaccins, bien qu'ils ne provoquent pas de lésions, persistent cependant pendant plusieurs mois dans les organes ou les ganglions (Lignières, Leclainche et Vallée), parfois trente mois; en outre ces bacilles peuvent être éliminés par le lait. Quand le vaccin est constitué par le Bacille humain, on conçoit que les animaux vaccinés pourraient constituer un danger à l'égard de l'homme.

2° Que les bacilles virulents inoculés ultérieurement chez des animaux en apparence vaccinés ne déterminent pas non plus de lésions apparentes, mais se maintiennent, eux aussi, vivants et virulents pendant de longs mois dans l'organisme des animaux, malgré la bonne santé apparente de ces derniers.

Les animaux ne sont donc pas à proprement parler vaccinés ;

mais ils sont devenus intolérants à l'égard des inoculations virulentes; les bacilles virulents inoculés demeurent en partie dans les tissus, tandis qu'une autre partie sont éliminés par la bile et par l'intestin (Calmette et Guérin).

On s'est adressé pour vacciner les bovidés, soit au Bacille humain, soit au Bacille bovin, soit à des bacilles modifiés ou atypiques.

Inoculation de Bacilles type humain. — *Bovo-vaccin de Behring.* — Nous avons vu que le Bacille type humain est peu virulent pour le bœuf; Behring a montré qu'il confère une certaine immunité.

Le bovo-vaccin de Behring est constitué par une culture de Bacille humain, avirulente même pour le cobaye, et desséchée dans le vide. On pratique chez le veau deux inoculations, toutes deux dans les veines : 0gr,004 et 0gr,020. Les animaux seraient immunisés.

De très nombreuses expériences ont été instituées pour contrôler les assertions de Behring. Les conclusions de l'expérience de Melun (Vallée et Rossignol) sont acceptées par tout le monde: la méthode de Behring confère aux animaux une résistance certaine, mais passagère; cette résistance s'épuise en moins de six mois à l'égard de l'infection naturelle (par cohabitation avec des animaux tuberculeux), en moins d'un an à l'égard de l'infection expérimentale par inoculation intraveineuse de Bacilles bovins.

Modifications du bovo-vaccin. — Il a été établi tout d'abord que tout Bacille de type humain se comporte, au point de vue de la vaccination, comme le « bovo-vaccin » de Behring.

Koch et Schütz, sous le nom de *Tauruman*, ont proposé d'inoculer un Bacille tuberculeux virulent pour le cobaye, et à l'état humide (non desséché); les résultats sont les mêmes qu'avec le bovo-vaccin, et la méthode est plus dangereuse pour l'homme.

Roux et Vallée ont essayé un bacille provenant du cheval (très voisin du Bacille type humain); il est résorbé plus vite que le Bacille humain habituel.

Vaccination par voie digestive. — Les animaux inoculés par la méthode de Behring sont moins résistants à l'ingestion qu'à l'injection intraveineuse; aussi Vallée a-t-il essayé l'immunisation par ingestion de Bacilles humains. La méthode, applicable chez le veau, ne réussit pas chez les bovidés adultes ; les veaux vaccinés résistent à l'ingestion d'épreuve, et les bacilles de l'ingestion d'épreuve sont résorbés en sept à huit mois.

Inoculation de Bacilles bovins. — Le Bacille bovin étant très virulent pour le bœuf, il semble difficile de pratiquer les vaccinations à l'aide de ce bacille par voie intraveineuse; Koch et Schutz, Th. Smith ont cependant proposé dans ce but des cul-

tures peu virulentes ou atténuées, mais leurs procédés ne se sont guère répandus.

Par contre, il est démontré que l'*ingestion* de petites doses de Bacilles bovins procure aux animaux une résistance considérable à l'égard des inoculations intraveineuses ou digestives (Roux et Vallée, Calmette et Guérin).

Vaccination par bacilles modifiés ou atypiques. — Bacilles biliés. — Calmette et Guérin vaccinent les bovidés par ingestion de Bacilles bovins atténués à la suite de passages sur pomme de terre biliée. Ce procédé semble l'un des plus actifs; ici encore, le virus vaccinal est retenu pendant longtemps dans les ganglions.

Cultures homogènes. — Arloing a essayé des cultures homogènes; les résultats obtenus paraissent inférieurs à ceux du bovo-vaccin.

Bacilles des animaux a sang froid. — On a proposé l'emploi de Bacilles modifiés par passage sur l'orvet (Moeller) ou sur la salamandre (Klimmer) : d'autre part, Friedmann a annoncé des résultats remarquables à la suite de l'inoculation de son Bacille des tortues (p. 778); mais ces diverses assertions ont toutes été infirmées dans la suite.

Virus sensibilisés. — Fr. Meyer, Calmette et Guérin ont vacciné les animaux (cobayes, bovidés) avec des bacilles sensibilisés. D'après Calmette et Guérin, les animaux vaccinés par ce procédé résorbent les bacilles du vaccin, et ultérieurement les bacilles des inoculations d'épreuve, un peu plus rapidement que les animaux vaccinés par d'autres procédés.

THÉRAPEUTIQUE BACTÉRIOLOGIQUE.

Tuberculinothérapie. — Après l'échec retentissant de la tuberculine brute de Koch, le traitement de la tuberculose par la tuberculine avait été à peu près universellement abandonné. Mais, depuis quelques années, des observations prolongées semblent avoir établi que la tuberculinothérapie constitue une méthode adjuvante nullement négligeable dans nombre de cas de tuberculose pulmonaire.

On a employé surtout les diverses tuberculines de Koch, la tuberculine précipitée et les tuberculines de Béraneck et de Denys.

Le traitement doit être appliqué seulement aux malades susceptibles de fournir une réaction efficace; il doit être prolongé pendant longtemps, d'ordinaire plusieurs années ; il doit être conduit avec prudence, en commençant par des doses faibles et en augmentant ensuite progressivement. La dose initiale sera d'autant plus faible que la maladie semble plus grave; elle oscille de 1/10 à 1/600 de milligramme de tuberculine ordinaire, suivant les cas.

Pour le détail de la technique, nous renvoyons le lecteur au travail de Kuss (1).

(1) *Bibliothèque de thérapeutique* de Gilbert et Carnot, Thérapeutique des maladies respiratoires et de la tuberculose pulmonaire.

Sérothérapie. — Un certain nombre de sérums ont été appliqués au traitement de la tuberculose. On peut dire que tous ont connu des fortunes diverses, mais aucun d'eux ne semble présenter constamment l'efficacité, ni même l'innocuité nécessaires. D'ailleurs, les tuberculeux sont particulièrement sensibles à l'injection de tous les sérums, que's qu'ils soient, et la fréquence des accidents sérothérapiques limite beaucoup les applications de la sérothérapie antituberculeuse. Aussi nous contenterons-nous d'énumérer les tentatives les plus connues et les plus intéressantes.

Sérums de Maragliano. — Maragliano a préparé deux sérums. Le premier était obtenu par injection à divers animaux (cheval, âne, bœuf, chien) de filtrats de cultures et d'extrait aqueux de bacilles virulents. Le sérum actuel est préparé par injections de trois filtrats: filtrat de cultures, filtrat d'une émulsion de bacilles dans le carbonate de soude à 2 p. 100, filtrat d'une macération de bacilles dans l'eau salée.

Le sérum est injecté à l'homme par petites doses, tous les jours, pendant plusieurs mois.

Sérum de Marmorek. — Marmorek inocule au cheval des filtrats de cultures jeunes sur un milieu spécial, macération de foie et sérum leucotoxique (sérum provenant de veaux traités par des globules blancs de cobaye); le sérum des animaux ainsi préparés serait actif, particulièrement dans les tuberculoses chirurgicales.

Le sérum de Marmorek a été assez largement utilisé en thérapeutique humaine, avec des résultats variables, assez souvent favorables dans les tuberculoses chirurgicales.

Sérum de Lannelongue, Achard et Gaillard. — Ce sérum provient d'ânes immunisés à l'aide d'un extrait particulier: un extrait aqueux de bacilles chauffés à 120° est précipité par l'acide acétique; on redissout le précipité par le carbonate de soude. Les résultats thérapeutiques sont discutés.

Sérum de Vallée. — Vallée injecte aux chevaux, dans les veines, d'abord son bacille d'origine équine; après quelques mois, un bacille humain, puis des endotoxines, obtenues par broyage des microbes.

Le sérum des animaux ainsi traités est nettement agglutinant et présente une sensibilisatrice spécifique.

Il est actif sur les bovidés tuberculeux (Vallée), mais les résultats obtenus chez l'homme sont irréguliers.

Sérum de Jousset. — On inocule dans les veines du cheval à la fois le bacille et ses poisons. Les bacilles sont d'origines diverses, humaine ou bovine.

Le sérum est inoculé sous la peau, à hautes doses, 100 à 140 centimètres cubes pour l'adulte de 70 kilogrammes.

Il est actif à l'égard des réactions fluxionnaires aiguës de la bacillose débutante, mais demeure impuissant en face des lésions fibro-caséeuses.

Sérum de Ruppel et Rikmann. — Ces auteurs s'adressent à des animaux tuberculisés expérimentalement ; les animaux tuberculeux seuls (et non les animaux sains) seraient capables de fournir des antitoxines. On inocule à des mulets et à des bœufs des bacilles de type humain, et on attend que ces animaux présentent des lésions tuberculeuses ; à ce moment, on commence les injections sérothérapiques : injection de tuberculine, d'extraits microbiens et de cultures vivantes. Le sérum ainsi obtenu, d'après Calmette, est nettement agglutinant et précipitant, et de plus riche en sensibilisatrices.

Sérum de Rappin. — Chez les animaux inoculés avec des bacilles dégraissés, traités par les dissolvants des graisses, puis tués par le fluorure de sodium, le sérum acquiert la propriété de neutraliser la tuberculine ; il est agglutinant.

BACILLE PISCIAIRE.

I. Bataillon, Dubard et Terre ont trouvé ce bacille chez la carpe. Depuis lors, on a rencontré des bacilles analogues ou identiques chez diverses espèces d'animaux à sang froid.

II. Le Bacille pisciaire présente la morphologie et les réactions colorantes du Bacille tuberculeux. Il diffère de ce dernier par des caractères importants.

a. Il se développe de préférence à 23°, alors qu'il ne se développe pas ou presque pas à 37°.

b. Les cultures se font facilement sur les milieux d'usage courant : couche crémeuse sur gélose ; grains de consistance savonneuse sur pomme de terre ; en bouillon, voile à la surface et grumeaux en profondeur.

c. Le Bacille pisciaire est pathogène pour beaucoup d'animaux à sang froid : carpe, grenouille, orvet, lézard, couleuvre, etc.

d. Au contraire, le Bacille pisciaire n'est pas pathogène pour les mammifères.

III. Quelles sont les relations exactes du Bacille pisciaire avec le Bacille tuberculeux? La question est toujours discutée.

a. Le bacille tuberculeux des mammifères, inoculé aux animaux à sang froid, provoque parfois des lésions tuberculeuses, mais le fait paraît exceptionnel. Le plus souvent on ne constate pas de lésions, ou seulement les lésions locales qui suivent l'inoculation des bacilles acido-résistants. Néanmoins l'inoculation au cobaye démontre que le bacille persiste plusieurs mois dans les organes (Bataillon, Dubard et Terre; Nicolas et Lesieur). La virulence des bacilles transplantés sur les animaux à sang froid paraît évoluer différemment suivant des conditions mal connues : les bacilles s'atténuent (Auché et Hobbs) et peuvent même perdre toute virulence pour le cobaye (Herzog), après un long séjour chez la grenouille ;

au contraire, d'après Bertarelli et Bocchia, ils conserveraient toute leur virulence originelle chez les cyprins d'eau douce.

b. Par acclimatement progressif à la température de 37°, on pourrait amener le Bacille pisciaire à prendre les attributs culturaux et pathogènes du Bacille des mammifères (Aujeszky).

c. On n'est pas fixé en ce qui concerne les tuberculines. Suivant Terre, Kamond et Ravaut, le Bacille pisciaire sécrète une tuberculine identique à celle du Bacille de Koch ; Pinoy et Burnet n'ont pu confirmer ces résultats.

d. Le Bacille pisciaire ne fixe pas les anticorps du Bacille tuberculeux dans la réaction de Bordet-Gengou.

Bacille de Friedmann. — Chez des tortues atteintes de lésions tuberculeuses, Friedmann a rencontré un bacille dont les propriétés sont nettement intermédiaires entre celles du Bacille tuberculeux et celles du Bacille pisciaire. Ce bacille, acido-résistant, présente les mêmes caractères culturaux que le Bacille de Koch, mais il se développe aussi bien à 23° qu'à 37°. Il est tuberculigène à l'égard des animaux à sang froid, de même que pour le cobaye ; il a peu d'action sur le lapin, pas du tout sur les oiseaux et le chien. On l'a utilisé comme vaccin.

CHAPITRE LIII

BACILLE DE LA LÈPRE

L'agent spécifique de la lèpre a été découvert par Hansen. Il se rencontre en abondance dans tous les produits lépreux. Certains caractères le rapprochent du Bacille tuberculeux.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Dans les tissus ou les excrétions, le Bacille de Hansen se présente comme un bâtonnet, à bouts arrondis, droit ou incurvé, de 5 à 6 μ sur 0μ,5 (fig. 279). Après coloration, on voit souvent des vacuoles dans l'intérieur du protoplasma et des renflements (spores?) aux extrémités.

Coloration. — Mêmes caractères que le Bacille tuberculeux. Il y a toutefois quelques différences de détail.

Comparé au Bacille de Koch :

a. Le Bacille de la lèpre se colore plus facilement, même par les solutions colorantes aqueuses, contrairement au Bacille de Koch.

b. Il résiste beaucoup plus longtemps aux décolorants énergiques (une heure à l'acide nitrique au tiers par exemple, Babés).

c. Il reste coloré par la méthode de Gram *habituelle*, alors que le Bacille de Koch ne se colore qu'au Gram prolongé (Voy. *Méthode de Much*, p. 746).

d. Il reste coloré par la méthode de Baumgarten, qui ne colore pas le Bacille de Koch.

Méthode de Baumgarten. — 1° Colorer pendant cinq minutes, à froid, avec le violet aniliné ;

2° Décolorer par la solution :

Alcool absolu.....	10 cent. cubes.
Acide nitrique.....	1 cent. cube,

Laver, sécher, monter,

Seul le Bacille de la lèpre est coloré en violet. Le Bacille de Koch n'est pas coloré.

Ces différences n'ont rien d'absolu. Le bacille vieilli résiste mal aux décolorants. D'après Jeanselme, ce n'est pas d'après leurs réactions de coloration qu'on peut distinguer le Bacille de Koch et le Bacille de la lèpre.

Bacilles vivants et bacilles morts. — Les bacilles morts retiennent moins les colorants (Unna). On peut mettre le fait en évidence :

Colorer au bleu Victoria, décolorer à l'acide nitrique faible (1 p. 100),

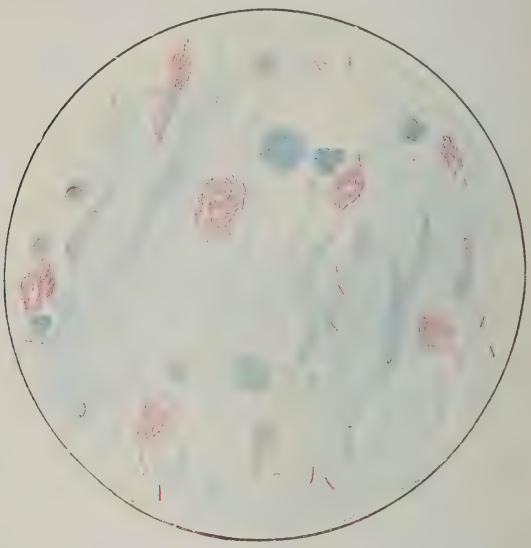


Fig. 279. — Bacille de la lèpre dans le mucus nasal.

recolorer à la safranine. Les bacilles vivants sont teints en bleu sur le fond jaune des bacilles dégénérés.

CULTURES.

Il n'est pas certain qu'on ait réussi jusqu'à maintenant à obtenir des cultures du Bacille lépreux. Les essais ont toujours été pratiqués en partant de produits riches en bacilles.

a. Beaucoup d'auteurs ont tenté cette culture et annoncé des résultats : citons Neisser, Bordoni-Uffreduzzi, Ducrey, Babès, et bien d'autres. Il paraît établi que le microbe obtenu était en réalité ou le Bacille tuberculeux, fréquemment associé au Bacille de la lèpre, ou quelque Bacille acido-résistant. Le *Streptothrix leproïdes* de Neycke est sans doute aussi un acido-résistant.

Spronck aurait réussi une première culture sur pomme de terre glycérinée et neutralisée : petites colonies jaunâtres. Cette première culture peut être ensemencée avec succès sur d'autres milieux (gélose, sérum

coagulé). Le seul caractère qui donne aux cultures de Spronck quelque intérêt est leur propriété d'être agglutinées (d'après l'auteur) de 1 p. 70 à 1 p. 1 000 par le sérum des lépreux, alors que le sérum normal n'agglutinerait pas au delà de 1 p. 30.

b. Bezançon, Griffon et Leredde ont obtenu sur sang gélosé une multiplication des bacilles ; une seule fois, une colonie qui n'a pu être repiquée.

c. Nicolle a constaté une légère prolifération en ensemençant l'eau de condensation d'un tube de gélose glucosée, avec ou sans sérum.

d. Weil a réussi des ensemencements sur jaune d'œuf. Dans l'œuf entier : souvent (pas toujours) formation d'un nodule comme un grain de chènevis, sec et ferme, formé de bacilles. Sur gélose au jaune d'œuf : début au cinquième jour, croissance pendant vingt jours.

Les cultures *a*, *b* et *c ne sont pas repiquables.*

e. M. T. Clegg ensemence, en même temps que le léprome, un être vivant unicellulaire, l'amibe dysentérique (en culture avec son bacille symbiotique). Il aurait réussi des cultures en série.

Duval, Wellmann, Harris pensent que le Bacille lépreux ne pousse pas sur la molécule protéique intacte, et que la culture demande la présence d'acides aminés, provenant de la décomposition des protéiques par des ferments ou des bactéries.

Les premières cultures de Duval, faites sur milieux albumineux additionnés d'un ferment, la trypsine, donnent un bacille acido-résistant, chromogène, jaune-orange sur sérum coagulé, jaune-citron sur gélose glycérinée.

Des cultures pratiquées ensuite par Duval et Wellmann sur milieux à base de placenta macéré, filtré, glycériné à 3 p. 100 et gélosé, donnent naissance à deux groupes de colonies : les unes sont identiques au bacille chromogène de Duval ; les autres, non chromogènes, constituent le bacille non chromogène. Les deux bacilles sont constamment présents dans chaque cas de lèpre.

RÉACTIONS A L'ÉGARD DES SÉRUMS.

Le sérum des lépreux fixe le complément en présence des extraits de léprome, ou des bacilles mis en liberté par l'antiformine, suivant le procédé employé pour le Bacille de Koch (Gaucher et Abrami, Biehler et Eliasberg). Cette réaction semble être spécifique.

Il paraît établi, d'autre part, que la réaction de Wassermann, faite à l'aide des antigènes habituels de cette réaction, est fréquemment positive avec le sérum des lépreux.

POUVOIR PATHOGÈNE.

A. **Chez l'homme.** — Agent de la lèpre sous toutes ses formes.

B. **Expérimentalement.** — Il n'est pas encore démontré qu'on ait réussi à conférer la lèpre aux animaux ; toutefois certaines recherches récentes paraissent mériter quelque crédit.

a. On a tenté d'inoculer le Bacille à l'homme lui-même; aucun succès incontestable.

b. Les essais d'inoculation au porc, au chien, au cobaye, aux vertébrés à sang froid ont échoué.

c. T. Sug i (1909), injectant une émulsion de Bacilles lépreux dans le péritoine ou le testicule de la souris dansante japonaise, aurait constaté la formation de granulations lépreuses du péritoine. Il peut y avoir confusion avec une pseudo-tuberculose.

d. Il n'est pas probable que les lésions trachomateuses réalisées par Stanziale, après inoculation de produits lépreux dans la chambre antérieure de l'œil du lapin, soient réellement de nature lépreuse,

e. Ch. Nicolle (1906), en injectant sous la peau du Bonnet chinois (*Macacus sinicus*) le suc de tubercules lépreux jeunes, a vu apparaître des nodules indurés, analogues comme structure aux lépromes humains et renfermant le Bacille de Hansen. Les nodules persistent un à trois mois, puis disparaissent. Il n'y a pas de généralisation. Plus récemment (1911), Nicolle et Blaizot ont expérimenté sur le chimpanzé: même résultat. A la suite des inoculations en série, la durée d'incubation est abrégée, et les nodules persistent plus longtemps.

f. Duval (1911), par injections sous-cutanées répétées d'émulsions riches en Bacilles, aurait reproduit une lèpre diffuse, à forme tuberculeuse, chez *Macacus rhesus.*

g. Duval et Couret (1912) signalent chez *Macacus rhesus* l'apparition de taches maculo-anesthésiques et de nodules sous la peau, dans le foie et la rate, avec bacilles dans les lésions à distance, plusieurs mois après inoculations répétées des cultures de Duval.

SIÈGE.

Le Bacille de la lèpre est localisé dans les lésions lépreuses. On l'y rencontre en *quantités colossales*, formant une masse importante du tissu ; tantôt isolé, tantôt aggloméré en amas indistincts (*globi*) ; tantôt formant des amas irréguliers, en *paquets de cigares*, dans de grandes cellules vacuolaires (*cellules lépreuses*) ou dans des cellules très analogues aux cellules géantes tuberculeuses.

Il se trouve en particulier dans le mucus nasal, les tubercules (fig. 280), la rate, la moelle osseuse, les ganglions, le foie ; en cas de

lèpre anesthésique, dans les cellules nerveuses (non constamment).

Les tubercules ulcérés émettent une véritable émulsion de Bacilles (Babès).

La localisation fréquente et précoce du bacille dans les fosses nasales revêt une grande importance pour le diagnostic (Jeanselme). Sticker l'a rencontré chez 128 malades sur 153; Kolle le considère comme constamment présent au cours de la forme tuberculeuse. Ces assertions ont été confirmées depuis (Arning, Lebœuf, etc.).

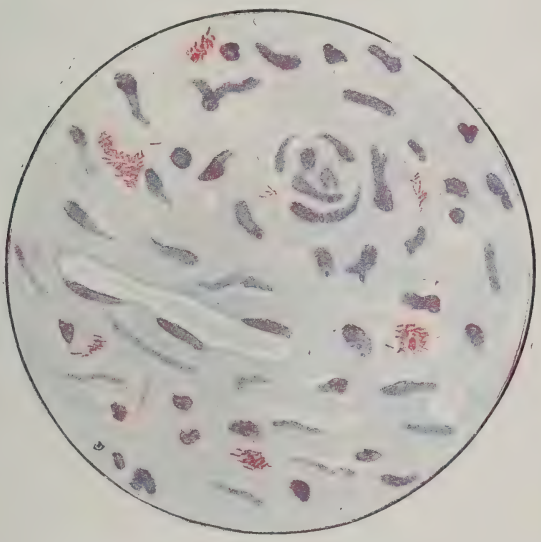


Fig. 280. — Bacille de la lèpre, dans un tubercule sous-cutané.

On rencontre moins fréquemment le bacille sur les conjonctives, dans l'expectoration, dans la salive, dans l'intestin, dans le lait.

Kitasato a pu le déceler dans les fosses nasales de sujets sains, en contact avec des lépreux.

Le bacille passe parfois dans le sang; on peut le déceler en soumettant à l'hémolyse 5 centimètres cubes de sang, centrifugeant et colorant le culot (Gougerot).

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

1. **Recherche du bacille**. — Pour le moment, la recherche du bacille par examen direct constitue le seul procédé certain de diagnostic bactériologique.

A. **Matériaux d'examen.** — S'il existe des tubercules externes ulcérés, on examinera les frottis de la sérosité et du produit de grattage de l'ulcération.

Sinon on s'adressera au mucus nasal: racler la muqueuse avec un écouvillon et étaler le produit sur lames. La recherche est positive dans un nombre élevé de cas, 60 à 90 p. 100 suivant les estimations. En cas d'insuccès, Leredde et Pautrier conseillent de faire ingérer au malade 4 grammes d'iodure de potassium un ou deux jours avant l'examen; on peut ainsi faire apparaître les bacilles.

Lorsqu'il existe des lésions pulmonaires, le bacille sera cherché dans les produits d'expectoration. Éventuellement, on examinerait également des ulcérations bucco-pharyngées, génitales, etc.

Ces diverses recherches sont parfois négatives; on pourra alors piquer un tubercule, laisser écouler le sang, comprimer ensuite pour faire exsuder le suc et y chercher le bacille (P. Manson).

En cas d'insuccès, on pratiquerait la biopsie d'un tubercule (l'opération est généralement indolore, en raison de l'analgésie de la région). Le tubercule enlevé peut être broyé et examiné comme les frottis; il vaut mieux inclure et pratiquer des coupes.

On peut enfin s'adresser à la ponction d'un ganglion superficiel, dont le suc renferme souvent le bacille lépreux, même tout à fait au début de l'infection (Lebœuf, Sorel).

B. **Technique de l'examen.** — Les *frottis* obtenus comme il vient d'être dit seront soumis aux procédés de coloration indiqués en pareil cas :

Coloration prolongée par une solution colorante habituelle ;

Coloration par la méthode de Gram ;

Coloration par le Ziehl-Neelsen.

On reconnaîtra le Bacille de Hansen à ce qu'il se colore par les trois procédés précédents. Il faut surtout apporter la plus grande attention au nombre et à la disposition des bacilles : les Bacilles lépreux sont souvent *extraordinairement abondants* et se disposent *en gros amas*, contrairement à tous les germes avec lesquels on peut être exposé à les confondre en raison de leur acido-résistance.

Causes d'erreur ; épreuves complémentaires. — On pourrait confondre le bacille de Hansen dans les frottis :

Avec le Bacille tuberculeux, surtout dans les lésions pulmonaires;

Avec les bacilles acido-résistants, spécialement dans le mucus nasal.

a. La confusion avec le Bacille tuberculeux est d'autant plus facile que les lésions tuberculeuses sont loin d'être rares chez les lépreux. On pourra reconnaître le Bacille de Hansen à l'aide des réactions colorantes spéciales signalées plus haut; mais nous avons vu qu'il n'est pas certain qu'on puisse se baser sur les procédés de coloration pour distinguer les deux

Bacilles. Il sera toujours prudent d'inoculer au cobaye : seul, le Bacille de Koch se montrera pathogène.

b. On sait que le mucus nasal peut renfermer des bacilles acido-résistants, spécialement le Bacille de Karlinsky et le Bacille de Marchoux et Halphen. Le second n'est pas alcoolo-résistant et sera éliminé par une méthode d'examen correcte ; le premier donne facilement des cultures jaunâtres sur gélose glycérinée et provoque des granulations du péritoine par inoculation intrapéritonéale au cobaye,

2° Les *coupes* seront colorées par les procédés indiqués pour le Bacille de Koch. On attachera une grande importance au nombre généralement colossal des bacilles et à leur disposition en volumineux paquets de cigares.

II. **Sérodiagnostic.** — S'il persistait quelque doute, on pratiquerait l'épreuve de la déviation du complément, en prenant comme antigène l'extrait de léprome. La spécificité de cette méthode n'est malheureusement pas encore rigoureusement établie ; mais elle peut être utilisée au moins comme moyen de contrôle.

THÉRAPEUTIQUE BACTÉRIOLOGIQUE.

I. Carasquilla injecte au cheval du sang ou du sérum de lépreux; Lucca et Laverde ont de même inoculé au bouc du suc de léprome avec du sang de lépreux. Le sérum d'animaux ainsi traités paraît avoir donné quelques minimes résultats en thérapeutique. En réalité, on obtient à peu près les mêmes effets en inoculant le sérum d'animaux traités par le sang d'homme sain (Metchnikoff et Besredka) : de tels sérums sont surtout leucotoxiques, et on comprend que leur action soit très irrégulière.

II. Sous le nom de *nastine*, Deycke désigne le produit obtenu en traitant par l'éther le *Streptothrix leproïdes*, microbe qui serait très voisin du Bacille lépreux. L'efficacité de la nastine est discutée.

MALADIE LÉPROÏDE DES RATS.

La lèpre est considérée comme strictement spéciale à l'espèce humaine.

Cependant Stefansky (1903) a décrit chez *Mus decumanus*, à Odessa, une affection présentant avec la lèpre les plus grandes analogies d'évolution, de lésions grossières (nodules et ulcérations cutanées) ou histologiques, et provoquée par un bacille qui rappelle d'une manière surprenante le Bacille de Hansen : même forme, mêmes réactions colorantes (acido-résistant), même surabondance dans les tissus, même défaut d'aptitude à se développer sur milieux artificiels.

Autres caractères importants : la maladie peut être inoculée au rat, mais non à d'autres espèces animales (Deau). Suivant Marchoux et Sorel, le rat blanc peut être infecté, même par simple scarification ; la souris est sensible à l'infection, mais à un moindre degré que le rat.

Le sérum des lépreux donne nettement la réaction de fixation avec le Bacille de Stefansky, aussi bien qu'avec le Bacille de Hansen (Mezincescu).

On voit qu'il existe des analogies surprenantes entre la lèpre humaine et cette maladie léproïde des rats, rencontrée de divers côtés (Odessa, Paris, Berlin, Bucarest, Angleterre, San-Francisco).

La question demeure à l'étude.

CHAPITRE LIV

BACILLES ACIDO-RÉSISTANTS PSEUDO-TUBERCULOSES

BACILLES ACIDO-RÉSISTANTS.

En dehors du Bacille tuberculeux et du Bacille de la lèpre, il existe un grand nombre d'autres bacilles, qui présentent des caractères de coloration analogues ou identiques ; ils sont *acido-résistants*, comme le Bacille de Koch et le Bacille de Hansen. On les appelle encore *Bacilles paratuberculeux*.

Ces Bacilles, signalés exceptionnellement jusque-là, ont été étudiés surtout depuis les recherches de Koch et Petri sur le beurre (1896).

Au point de vue pratique, il convient d'accepter la séparation établie par Bezançon et Philibert: ces auteurs distinguent des *Bacilles tuberculoïdes* (que nous appellerons *Bacilles acido-résistants vrais*, pour ne pas préjuger de leurs relations avec le Bacille tuberculeux) ; et des *Bacilles accidentellement acido-résistants*. Nous verrons en effet que les premiers ne peuvent souvent être différenciés des Bacilles de Koch ou de Hansen que par des procédés longs ou délicats, mais se rencontrent rarement chez l'homme ou l'animal malades ; à ces deux points de vue, pratiquement les plus importants, les Bacilles accidentellement acido-résistants se comportent d'une manière opposée.

Bacilles acido-résistants vrais. — 1° Ces Bacilles sont très répandus dans la nature ; on ne les trouve que très rarement chez l'homme ou chez l'animal.

a. Dans le beurre. ils ont été rencontrés par nombre d'observateurs : Bacille de Petri-Rabinowitsch, de Binot, de Korn (deux variétés), de Tobler (cinq variétés), d'Aujeszky, de Beck, etc.

b. Moeller les signale *dans le lait.*

c. Quelques-uns existent dans le *fumier* (*Mistbacillus* de Moeller), sur la *fléole* (*Timotheebacillus* de Moeller).

d. Chez les *animaux*, les mêmes bacilles sont signalés par Moeller dans certaines pommelières des bovidés.

e. Chez l'*homme*, on compte les observations : deux cas de Ginsberg (conjonctivite chronique), un cas de Rabinowitsch (gangrène pulmonaire), un cas de Beck (amygdale) et quelques autres.

2° Au point de vue de leurs *réactions colorantes*, ces bacilles se comportent exactement comme le Bacille tuberculeux; en particulier, ils restent colorés en rouge par le procédé de Ziehl-Neelsen; ils sont donc non seulement acido-résistants, mais encore *alcoolo-résistants*.

3° Mais les *conditions de culture* sont très différentes. Les acido-résistants se développent facilement en un ou deux jours sur les milieux habituels. Ils poussent sur gélatine, sans la liquéfier. En bouillon ordinaire ou glycériné, ils donnent rapidement un voile exubérant. Sur gélose, la culture est tantôt sèche et plissée, tantôt grasse et crémeuse.

Les cultures prennent fréquemment une teinte jaune d'or, jaunâtre ou rougeâtre.

4° *Ces bacilles sont doués de quelque virulence.* Inoculés sous la peau du cobaye, ils provoquent un abcès caséeux, sans généralisation; inoculés dans le péritoine, soit à dose massive, soit à dose faible en mélange avec du beurre stérile, ils déterminent une péritonite fibrino-caséeuse, qui constitue au foie et à la rate une véritable carapace; mais les lésions demeurent presque toujours superficielles : il est tout à fait exceptionnel que le foie soit lésé dans la profondeur; il est encore plus exceptionnel de trouver des lésions à distance. Ces diverses lésions sont très riches en bacilles (beaucoup plus riches que les lésions tuberculeuses vraies). Elles ne présentent pas de cellules géant s. Elles ne sont pas indéfiniment réinoculables en série.

Les relations exactes des Bacilles acido-résistants avec le Bacille tuberculeux sont mal établies. Ils diffèrent surtout du Bacille de Koch par la facilité avec laquelle ils s'adaptent aux milieux artificiels et par les caractères particuliers des lésions qu'ils provoquent expérimentalement. Certains auteurs les considèrent comme représentant la forme saprophytique du Bacille de Koch; mais ce n'est là pour le moment qu'une simple hypothèse.

Bacilles accidentellement acido-résistants. — 1° Contrairement aux précédents, ces bacilles ne sont pas rares chez l'homme à l'état normal ou à l'état pathologique.

a. Ils sont fréquents *dans le smegma*, et ces bacilles passent souvent dans l'urine. Ce sont les *Bacilles dits du smegma* (Alvarez et Tavel, Czaplewski, Lubarsch). Rappelons que Lustgarten avait considéré un moment le Bacille du smegma comme étant l'agent de la syphilis.

b. On les trouve très souvent aussi *dans le sébum*, les comédons, les sécrétions interdigitales des orteils, de même que *dans le cérumen* (Laabs,

Gottstein), parfois dans le tartre dentaire (Rabinowitsch), parfois dans le contenu intestinal.

c. Dans le *mucus nasal*, à l'état normal ou pathologique (surtout chez les ozéneux), on trouve des bacilles du même groupe (*Mycobacterium putricolens* de Marchoux et Halphen).

d. Ils ont été signalés parfois *dans certaines affections pulmonaires* : gangrène pulmonaire (Pappenheim) ou dilatation des bronches (Zahn).

e. Tout à fait exceptionnellement, on les a rencontrés dans certaines suppurations (otites surtout, Cima).

f. Dans les liquides pleurétiques ou le *sang*, prélevés par ponction et abandonnés à eux-mêmes, les Bacilles acido-résistants accidentels pullulent très souvent (Bezançon et Philibert).

g. On les a signalés sur le cadavre.

2° Ces bacilles, en raison de leurs localisations, prêtent à confusion avec le Bacille tuberculeux. Mais ils se distinguent de ce dernier par un caractère capital : *ils ne sont pas alcoolo-résistants* ; en outre, ils résistent beaucoup moins que le Bacille tuberculeux à la décoloration par les acides. Enfin ils se colorent par les solutions colorantes habituelles, ce que ne fait pas le Bacille tuberculeux.

Le diagnostic avec le Bacille tuberculeux sera donc fait sans difficulté, à la seule condition d'employer une technique appropriée. Par le procédé de Ziehl-Neelsen ces bacilles perdent la coloration rouge et se recolorent en bleu, alors que le Bacille de Koch reste coloré en rouge. Avec la plupart des méthodes, d'ailleurs, une simple décoloration complémentaire par l'alcool suffira à décolorer les pseudo acido-résistants.

3° *Au point de vue pratique*, il faut penser aux acido-résistants dans les diverses circonstances que nous avons signalées (urines, crachats fétides, etc.). Il suffit, d'ailleurs, d'y penser pour éviter une erreur grossière d'interprétation.

4° La plupart d'entre ces microbes n'ont pas été cultivés. Quelques-uns d'entre eux ont été ensemencés avec succès sur des milieux organiques. Leurs caractères d'inoculation sont peu connus ; il est seulement établi qu'ils ne provoquent jamais chez le cobaye de lésions prêtant à confusion avec la tuberculose.

5° Il est manifeste que les bacilles accidentellement acido-résistants *empruntent* leur acido-résistance aux conditions spéciales des milieux où ils vivent. Ceux qui peuvent être cultivés perdent généralement leur acido-résistance dans les cultures sur milieux artificiels. D'autre part, Bienstock, Bezançon et Philibert ont montré qu'on peut conférer les mêmes propriétés acido-résistantes à bien d'autres bactéries : Bacille diphtérique, Bactéridie charbonneuse, *B. subtilis*, en les cultivant sur milieux additionnés de beurre ou de lanoline. Cette expérience démontre élégamment la cause de l'acido-résistance accidentelle.

PSEUDO-TUBERCULOSES.

Le tubercule n'est pas pathognomonique de la tuberculose. On peut en effet rencontrer des tubercules dans nombre de circonstances où n'intervient pas le Bacille tuberculeux.

1° Certaines formes de tubercules *ne sont pas réinoculables en série*, caractère fondamental. Il faut citer dans ce groupe :

a. Les tubercules développés autour de corps étrangers introduits dans les tissus. Expérimentalement, ils apparaissent après injection de poudres diverses : poudre de lycopode, poudre de cantharide (Hipp, Martin), encre de Chine, etc. Cliniquement, on les observe parfois chez l'homme, en particulier dans l'iris ou la conjonctive, après inoculation accidentelle de plomb, de verre ;

b. Les tubercules des pseudo-tuberculoses vermineuses, développés en particulier dans le poumon du chien autour de *Strongylus filaria* (Laulanié).

2° *Les vraies pseudo-tuberculoses sont réinoculables en série.* Citons :

a. Les pseudo-tuberculoses dues à des *parasites* relativement élevés : aspergillose, oïdiose, sporotrichose, lésions provoquées par des oosporoses ;

b. Les *pseudo-tuberculoses microbiennes.*

Ces dernières sont de beaucoup les plus importantes à connaître. Nous les étudierons exclusivement dans ce chapitre.

PSEUDO-TUBERCULOSES MICROBIENNES.

L'histoire des pseudo-tuberculoses microbiennes est encore bien confuse. Il paraît seulement établi, d'une part, que les pseudo-tuberculoses, rares chez l'homme, le sont moins chez l'animal ; d'autre part, que bon nombre d'entre elles sont provoquées soit par le Bacille de la tuberculose zoogléique de Malassez et Vignal (ou Bacille de la pseudo-tuberculose des rongeurs de Pfeiffer), soit par le Bacille de Preisz et Nocard.

Coccobacille de la pseudo-tuberculose zoogléique (Malassez et Vignal). — **Morphologie.** — Dans les tissus, le Bacille de Malassez et Vignal se présente souvent en amas, formés d'éléments isolés ou disposés en chaînettes, noyés dans une sorte de gangue amorphe.

En cultures, l'aspect est polymorphe : Coccobacilles en amas, en chaînettes ou isolés.

Ce Coccobacille se colore facilement ; il ne prend pas le Gram et n'est pas acido-résistant.

Il est plus ou moins mobile ; il ne donne pas de spores.

Cultures. — Les cultures s'obtiennent facilement, en partant soit des tubercules, soit du sang, au contact de l'air, à 20° ou 37°.

Bouillon. — Trouble rapide, souvent léger voile.

Gélose. — Culture abondante, blanc grisâtre.

Sérum coagulé. — Comme sur gélose.

Gélatine. — Enduit demi-transparent, blanchâtre, non liquéfiant.

Pomme de terre. — Enduit d'abord blanc, jaunâtre, puis brunâtre.

Lait. — Non coagulé.

Milieux lactosés. — Non fermentés.

Propriétés biologiques. — La vitalité est assez grande, un mois environ en culture à 37°, plusieurs mois à 20°.

Action pathogène, dans les conditions naturelles. — a. *Chez l'homme.* — C'est dans un tubercule sous-cutané que Malassez et Vignal ont tout d'abord isolé leur microbe. Depuis lors, le même germe, ou des espèces singulièrement voisines, ont été signalés exceptionnellement (P. Courmont et Tixier, J. Courmont et Nicolas).

b. *Chez l'animal.* — Avec Preisz, il faut également rapporter à la même espèce les microbes rencontrés au cours d'affections caractérisées anatomiquement par des tubercules, chez le cobaye (Eberth, Charrin et Roger), le lapin (Eberth; Charrin et Gouget, dans des tubercules de l'appendice), chez la vache (J. Courmont et Nicolas), chez la poule (Nocard), chez le cheval (Pfeiffer).

En ce qui concerne en particulier le cobaye, la pseudo-tuberculose zoogléique n'est pas exceptionnelle et se comporte parfois *comme une épizootie.*

Action pathogène expérimentale. — *Cobaye.* — L'inoculation sous-cutanée provoque un abcès local qui s'ouvre à l'extérieur; l'animal succombe en une à deux semaines. A l'autopsie : tuméfaction et parfois caséification des ganglions; tubercules dans les divers organes.

L'inoculation intrapéritonéale tue en trois à quatre jours; péritonite, tubercules surtout dans le foie et la rate.

Par ingestion : tubercules généralisés.

Lapin. — Par inoculation intraveineuse, une culture jeune détermine une septicémie mortelle, sans lésion; une culture de quinze à vingt jours tue en trois semaines environ, en déterminant une éruption généralisée de tubercules.

Autres animaux. — Moins régulièrement sensibles que les précédents. La souris et le rat blanc sont sensibles à certains virus.

Siège. — Le bacille se retrouve dans les diverses lésions signalées. En plus, on l'a rencontré dans l'air (Chantemesse), sur la terre, etc.

Agglutination. — Le sérum des animaux inoculés est agglutinant (Ledoux Lebard, de Blasi).

Importance pratique de la pseudo-tuberculose zoogléique. — En dehors de l'intérêt qui s'attache à son étude, la pseudo-tuberculose zoogléique est surtout importante à connaître parce qu'*elle*

peut prêter à confusion avec la tuberculose vraie, à Bacilles de Koch, particulièrement chez le cobaye.

On comprend, en effet, que, si un cobaye inoculé avec un produit suspect de tuberculose succombe dans la suite et présente à l'autopsie des tubercules généralisés, il devient nécessaire de s'assurer de la nature de ces tubercules. Quand la mort survient peu après l'inoculation sous-cutanée, en huit à dix jours, il ne s'agit certainement pas de tuberculose. Quand la mort est tardive, après un mois ou plus, elle peut être due ou bien à une infection par le Bacille de Koch, ou bien à une pseudo-tuberculose spontanée. On établira facilement le diagnostic :

Dans la tuberculose vraie, les tubercules renferment des Bacilles tuberculeux, colorables par les procédés spéciaux, et les cultures sur milieux d'usage courant demeurent stériles;

Dans la pseudo-tuberculose, les tubercules ne renferment pas de Bacilles tuberculeux; on réussira souvent (pas toujours) à déceler les Coccobacilles par examen direct; on en obtiendra toujours très facilement des cultures sur milieux habituels.

Bacille de Du Cazal et Vaillard. — Isolé à l'autopsie d'un homme présentant une éruption de nodules caséiformes, le Bacille de Du Cazal et Vaillard présente la plupart des caractères du Coccobacille de Malassez et Vignal, mais il diffère de ce dernier par deux propriétés importantes :

Il liquéfie la gélatine;

Il est pathogène seulement pour le lapin, non pour le cobaye.

Bacille de Preisz-Nocard. — Ce bacille, très répandu en pathologie animale, a fait l'objet d'études expérimentales des plus intéressantes.

Morphologie. — Éléments polymorphes : tantôt isolés, tantôt réunis en amas irréguliers; nettement bacillaires le plus souvent, parfois coccobacillaires et même franchement arrondis; renflements fréquents aux extrémités (comme le Bacille diphtérique). Immobiles.

Ils se colorent facilement et prennent le Gram.

Cultures. — Le développement est surtout aérobie.

Bouillon. — Le milieu reste clair; dépôt au fond, avec voile sec. Culture plus abondante en bouillon-sérum.

Gélose. — Traînée blanchâtre, mince, sèche, chagrinée.

Sérum coagulé. — Colonies blanches ou jaunes, arrondies.

Pomme de terre. — Traînée pulvérulente, blanchâtre.

Gélatine. — Pas de développement à la température ambiante.

Action pathogène, dans les conditions naturelles. — Le Bacille de Preisz-Nocard est pathogène pour le cheval, le mouton, le porc, le bœuf, et probablement bien d'autres espèces.

Chez le *cheval* : agent de la dermite pustuleuse (ou acné contagieuse), d'une forme épizootique de lymphangite suppurée (Nocard).

Chez le *mouton* : agent de pseudo-tuberculoses, localisées surtout au foie, au rein, au poumon, aux ganglions thoraciques (Preisz); agent des eaux rousses, infection aiguë, et de la cachexie aqueuse, infection chronique (Carré).

Action pathogène expérimentale. — La virulence est variable, le plus souvent très marquée.

Cobaye. — Par inoculation *sous-cutanée*, il se produit un abcès caséeux; l'animal succombe souvent avec des abcès multiples à distance.

L'inoculation *intrapéritonéale* au cobaye mâle donne une *orchite* suppurée (Nocard).

L'inoculation *dans les voies circulatoires* détermine rapidement : une éruption pustuleuse au point rasé ou épilé, puis aux aines, au scrotum, au nez; des ostéo-arthrites des extrémités; des abcès sous-cutanés. Mort en quelques jours avec granulations dans le foie, la rate, les poumons et le péritoine (Panisset).

Le *lapin* et la *souris* sont un peu plus résistants; mêmes réactions que le cobaye, avec des doses plus fortes.

Le *mouton* est très réceptif.

Toxines. — Le bacille sécrète une toxine soluble très active (Carré). Le filtrat de cultures, inoculé au cobaye, sous la peau, à dose de 2 à 5 centimètres cubes, tue en dix à quinze heures après avoir provoqué de l'œdème très marqué; à dose non mortelle, il se produit une escarre (M. Nicolle, Loiseau et Forgeot).

Vaccination. — On peut combattre l'épizootie des moutons par vaccination avec virus chauffés ; deux inoculations (Carré).

Sérothérapie. — Le sérum obtenu chez les animaux neutralise la toxine, mais n'a pas d'action sur la maladie naturelle (Carré).

Diagnostic. — D'après Forgeot et Césari, on peut déceler l'infection chez le cheval en étudiant les propriétés du sérum : l'injection préventive de 2 centimètres cubes de sérum d'animal infecté prémunise le cobaye contre l'inoculation, faite vingt-quatre heures après, d'une dose sûrement mortelle de bacilles.

BACILLE DE LA NÉCROSE (BACILLE DE SCHMORL).

A côté des pseudo-tuberculoses, il faut ranger certaines des lésions produites par le bacille de la nécrose, ou bacille de Schmorl. Ce bacille a fait l'objet de quelques études intéressantes, spécialement celles de Césari et Alleau.

Morphologie. — Il se présente le plus souvent sous le « type allongé », filaments longs de 10 à 100 μ et plus, sur 0μ,7 à 1 μ, droits ou sinueux, enchevêtrés, présentant un protoplasma clair

avec condensations chromatiques. A cette forme se substitue le « type court » formé de bacilles courts, dans les lésions ou cultures anciennes.

Cultures. — *Anaérobie strict*, ne pousse par conséquent qu'avec l'emploi des dispositifs spéciaux pour anaérobies.

Bouillon Martin. — Trouble uniforme avec ondes moirées en vingt-quatre heures. Eclaircissement en trois à quatre jours. Odeur désagréable (celle du javart).

Sérum coagulé, en piqûre. — Aspect rameux, rappelant la forme « sapin renversé » de la bactéridie charbonneuse.

Lait. — Le lait est coagulé.

Pouvoir pathogène. — Dans les conditions naturelles, il détermine des infections chez des espèces diverses.

a. *Chez le cheval.* — Agent surtout des lésions nécrotiques des extrémités; du javart cartilagineux, ou nécrose du fibro-cartilage de la troisième phalange; de la ténosite nécrosante (javart tendineux); des foyers nécrotiques métastatiques des poumons, consécutifs aux lésions locales précédentes.

b. *Chez les bovidés.* — Agent de la stomatite gangréneuse des veaux, de mortifications du pied (piétin, gangrène des onglons), de lésions nécrotiques ou suppurées du foie et des poumons.

c. *Chez le mouton.* — Agent du piétin (nécrose de l'ongle), et d'une maladie enzootique caractérisée par des ulcérations du pied, des membres et des lèvres.

d. *Chez le lapin.* — Agent de la nécrose envahissante des lèvres.

e. *Chez le cobaye.* — Rencontré plusieurs fois par l'un de nous comme agent de certains foyers nécrotiques du foie.

Expérimentalement. — *L'inoculation sous-cutanée* détermine chez le cobaye une lésion localisée à forme de bourbillon; chez le lapin, une lésion locale à marche envahissante avec formation de bourbillon et d'escarre. Le cobaye survit, le lapin succombe en douze à vingt-quatre jours.

L'*inoculation intraveineuse* chez le lapin, à dose de 1/10 de centimètre cube, tue l'animal en six à quinze jours, avec lésions du type bourbillon dans les articulations, les muscles, le tissu cellulaire.

CHAPITRE LV

ACTINOMYCES BOVIS

L'*Actinomyces bovis* est l'agent pathogène d'une affection qui sévit de préférence chez les bovidés. se traduisant par la production de tumeurs envahissant les téguments et les tissus sous-jacents et aboutissant à la fonte purulente; elles siègent chez ces animaux particulièrement au niveau des os maxillaires et de la langue.

Cette affection, dite *actinomycose*, sévit aussi chez l'homme (Israël et Wolff, Poncet et ses élèves, etc.).

Il semble que ce parasite ait été vu en 1868 par Rivolta, qui, dans le pus de ces lésions, observa des « corpuscules discoïdes composés de bâtons rameux ». En 1877, Bollinger les décrit sous l'aspect de champignons qui reçoivent de Harz la dénomination qu'ils portent aujourd'hui.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le microscope montre l'*Actinomyces bovis* sous des aspects différents, suivant qu'on l'observe dans les tissus ou les cultures.

Dans les tissus. — Dans les foyers suppurés, on trouve d'une façon constante des *grains jaunâtres*, de dimensions variables : ce sont les *grains actinomycosiques.*

Chaque grain est constitué par une agglomération de corps mûriformes; on peut y distinguer nettement deux zones (fig. 271) : l'une, *centrale*, est occupée par le mycélium; l'autre, *périphérique*, est représentée par les éléments, en forme de massues ou de crosses, disposés tout autour de la zone mycélienne centrale.

Le *mycélium* est composé d'un feutrage de filaments enchevêtrés les uns dans les autres ; ces filaments sont des bâtonnets rectilignes, ou incurvés ou spiralés, longs de 3 à 12 μ sur 1 à 2 μ de large. De ce feutrage central, certains rayonnent dans les massues ou entre elles.

Les *massues* représentent en réalité une phase de transformation des filaments. On voit, en effet, l'extrémité du filament se renfler,

puis la membrane d'enveloppe de ce dernier se gonfle, alors qu'à l'intérieur de la massue de nouvelle formation le filament persiste, mais pour disparaître ultérieurement.

Ces massues correspondent sans doute à une forme de dégénérescence, à une forme d'involution du parasite, qui subit l'influence défensive de l'organisme. Quand l'affection évolue vers la guérison, il n'est pas rare de voir le grain actinomycosique constitué unique-

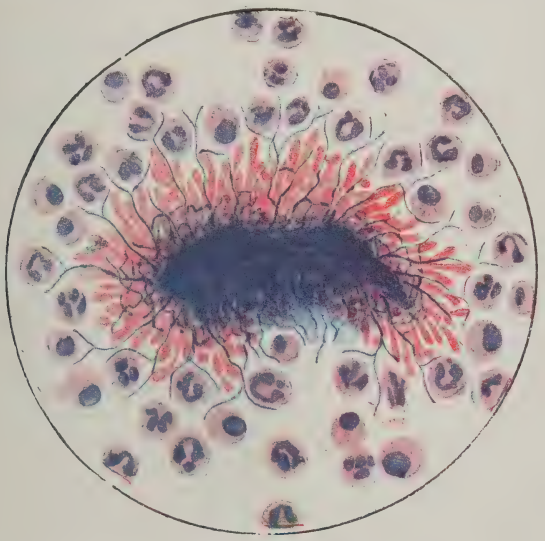


Fig. 281. — Grain d'actinomycose (coloration par le Gram et l'éosine). Mycélium (violet). Massues (roses), globules pyoïdes.

ment par des massues. Elles subissent parfois la dégénérescence calcaire ou bien une désintégration progressive.

Dans le tubercule actinomycosique qui précède le processus suppuratif, le parasite présente les mêmes caractères, mais il est entouré d'une zone de cellules épithélioïdes, provenant de leucocytes mononucléaires et de cellules fixes conjonctives, jouant un rôle phagocytaire accusé vis-à-vis des filaments mycéliens; ces cellules épithélioïdes peuvent se réunir pour former des cellules géantes.

Dans les cultures. — Mis en culture artificielle, l'*Actinomyces bovis* se montre seulement sous la forme filamenteuse. Les filaments, ramifiés irrégulièrement, sont longs de 60 à 100 μ. Les massues et les crosses sont absentes.

Quand les cultures sont âgées, ces filaments se segmentent pour

former comme des chaînettes de bacilles, voire même de cocci. Sur les filaments aériens, se développent des chapelets de fructifications conidiennes, se détachant avec une grande facilité : ce sont les filaments sporifères, Quand les cultures sont vieilles, les spores sont seules perceptibles.

Coloration. — La propriété de fixer les colorants est différente, suivant qu'on envisage le mycélium et les massues.

Les filaments mycéliens restent colorés par le Gram; les massues se décolorent par cette méthode (fig. 281).

On obtient de bonnes préparations par la technique suivante :

Écraser un grain jaune sur une lame; laisser sécher, fixer par l'alcool-éther. Colorer ensuite par le procédé de Gram; après action de l'alcool absolu, laver à l'eau, puis recolorer par l'éosine, la safranine : les filaments mycéliens sont colorés en violet, les massues en rose. Avec le picrocarmin, employé pour la deuxième coloration, les massues prennent une teinte jaunâtre.

Le mycélium possède encore la propriété de retenir assez fortement la fuchsine de Ziehl, malgré l'action décolorante des acides; toutefois, cette acido-résistance est moins marquée que pour le Bacille tuberculeux.

Ce procédé convient bien à la coloration des coupes :

Faire agir la fuchsine de Ziehl pendant quarante à cinquante minutes; décolorer ensuite par l'acide sulfurique à 1 p. 100, puis par l'alcool. Laver à l'eau, et colorer le fond à l'aide d'une solution de bleu de méthylène.

CULTURES.

L'*Actinomyces bovis* se cultive indifféremment en milieu aérobie ou anaérobie. Il commence à se développer à 20°; la température optima est 27°; il pousse encore jusque vers 50°.

Tous les milieux artificiels lui conviennent, mais de préférence ceux auxquels on ajoute du sérum ou de la glycérine.

Bouillon glycériné. — La culture se montre vers le cinquième ou le sixième jour, sous l'aspect de grains arrondis, durs, blanchâtres, qui ne tardent pas à tomber au fond du tube, laissant le milieu clair et limpide.

Gélose glycérinée. — On observe, au bout de trois à quatre jours, des colonies (fig. 282) sèches, rugueuses, blanc jaunâtre, puis jaunes, qui adhèrent fortement au milieu sous-jacent. Quand elles sont abondantes, elles finissent par confluer.

Gélatine. — Les colonies isolées sont petites, grisâtres, à contours

irréguliers; le centre est jaune. La liquéfaction du milieu se produit assez tardivement; elle n'est d'ailleurs jamais très intense.

Sérum coagulé. — Grains de teinte blanc jaunâtre, d'aspect sec et rugueux.

Pomme de terre glycérinée. — Les colonies n'apparaissent que vers la fin de la première semaine; incolores tout d'abord, elles deviennent ensuite grisâtres, puis jaunâtres. Au fur et à mesure du développement, elles s'épaississent, deviennent confluentes; il se forme une culture mamelonnée, rugueuse, à contours irréguliers (fig. 283). Autour de la culture, le milieu prend une teinte brunâtre.

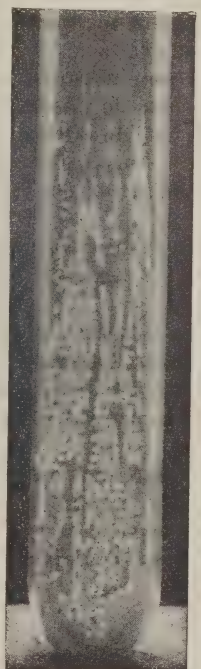


Fig. 282. — Culture sur gélose glycérinée.

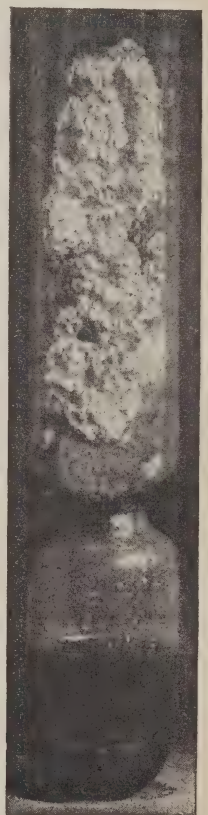


Fig 283. — Culture sur pomme de terre glycérinée.

Graines de céréales. — Sur les graines de blé, avoine, orge, etc., soit fraîches, soit sèches, mais alors ramollies préalablement dans l'eau, l'*Actinomyces* cultive; la culture apparaît vers le deuxième ou troisième jour, sous l'aspect d'un enduit pulvérulent, de teinte jaunâtre, qui pénètre dans l'intérieur de la graine.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité et virulence. — Le parasite résiste assez bien aux influences nocives. Si les cultures sont tuées en dix minutes par une température de 75°, le parasite issu de l'organisme paraît beaucoup plus résistant, car on l'a retrouvé vivant après plusieurs années (Poncet et Bérard); la spore pourrait vivre quatre ans. L'action des

antiseptiques usuels est peu marquée; celle de l'acide phénique à 5 p. 100 est nulle; le sublimé à 1 p. 1000 ne détruit le parasite qu'au bout de cinq minutes.

Liebmann a montré que la virulence du parasite s'atténuait rapidement par les divers passages sur l'homme et l'animal; mais il serait facile de lui faire récupérer sa végétabilité et sa virulence en le faisant cultiver sur une plante.

Production de toxine. — On peut mettre en évidence la production d'une toxine en utilisant le filtrat d'une culture en bouillon glycériné. Deléarde a ainsi obtenu une *streptothricine* assez semblable, dans ses effets, à la tuberculine. Injectée à des animaux actinomycosiques, elle détermine une réaction fébrile; l'injection reste sans effet chez les animaux sains.

Réaction vis-à-vis des sérums de sujets atteints de mycoses. — L'*agglutination* de l'*Actinomyces* ne peut être recherchée en raison de sa morphologie particulière; les milieux de culture ne peuvent, en effet, fournir des spores isolées; quand on filtre une émulsion, on n'obtient guère que des filaments mycéliens, réfractaires à l'agglutination.

Par contre, le sérum des actinomycosiques agglutine fortement les spores de *Sporotrichum Beurmanni* (Widal, Abrami, Joltrain et Brissaud).

La *fixation du complément* s'obtient d'une façon constante quand on met en contact le sérum d'actinomycosique avec les cultures d'*Actinomyces*. Il en est de même encore quand l'*Actinomyces* est mis en présence du sérum de sporotrichosique ou de sujets atteints de muguet.

De même encore, les cultures de sporotrichose et de muguet fixent le complément en présence du sérum d'actinomycosique.

Il s'agit là assurément de phénomènes de fixation et de cofixation réversibles, comme il s'agissait, dans les précédents, de phénomènes coagglutinants.

HABITAT. — ACTION PATHOGÈNE.

L'*Actinomyces bovis* se rencontre dans l'organisme malade, dans toutes les lésions caractéristiques de l'actinomycose : nodules, abcès et tumeurs suppurées.

Il exerce son action pathogène chez l'homme, mais surtout chez l'animal. On observe l'actinomycose principalement chez les bovidés, qui sont atteints parfois, en certaines régions, d'une manière enzootique. Chez le cheval et le mouton, elle est assez rare; chez le porc, elle sévit assez exceptionnellement.

L'*Actinomyces* est essentiellement un parasite des végétaux, sur lesquels il se trouve sans doute à l'état de spores, qui résistent à l'influence des agents physiques extérieurs. Les céréales en sont les véhicules fréquents.

Leur rôle inoculateur est indéniable. Piana, dans un cas d'actinomycose linguale du veau, a constaté la présence d'une barbule d'orge couverte de parasites, siégeant dans le trajet fistuleux de la lésion. De nombreuses observations recueillies chez l'homme plaident dans le même sens : cas de Soltmann, concernant un enfant ayant avalé un épi d'orge ; un abcès actinomycosique du dos se déclara, où l'on retrouva l'épi chargé d'*Actinomyces*. Wolfler, Boström, Guermonprez et Augier, etc., firent des constatations analogues.

La pénétration de l'*Actinomyces* dans l'organisme s'effectue le plus souvent dans les premières voies digestives par les épis porteurs du parasite, qui s'implantent dans la langue, au niveau des muqueuses gingivale, buccale, pharyngée, etc., ou bien ils se logent entre les dents, pénétrant ensuite dans les alvéoles.

Le parasite peut aussi, mais plus rarement, traverser la muqueuse gastrique ou intestinale (Chiari). L'infection peut se produire encore par le poumon, à la suite de l'inhalation de poussières provenant du battage du blé.

On suppose enfin qu'elle peut s'effectuer par des excoriations cutanées.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

Les inoculations expérimentales ont donné, entre les mains des divers auteurs, des résultats assez variables.

On peut réussir cependant, en employant comme matériel d'inoculation les *produits pathologiques*. Israël, Rotter, Dor et Bérard introduisirent dans le péritoine de lapin des fongosités d'actinomycose humaine ; ils conférèrent une infection, à évolution très lente : sacrifié six mois après, l'animal présentait dans la cavité abdominale (épiploon, mésentère) une série de tumeurs pouvant acquérir les dimensions d'une noisette. Les mêmes résultats ont été obtenus par Ponfick chez le veau.

L'inoculation de cultures est le plus souvent négative. Le lapin cependant a pu être infecté de cette manière par plusieurs auteurs (Mosselmann et Liénaux, Wolf et Israël) par la voie péritonéale.

Inoculées dans la chambre antérieure de l'œil (Dor), les cultures donnent naissance à des granulations qui disparaissent bientôt sans laisser de traces. Par inoculation dans le corps vitré, au contraire, Dor a vu la lésion progresser, l'œil être envahi par un noyau

caséeux ; enfin l'autopsie montre des lésions pulmonaires et osseuses, avec les parasites caractéristiques.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'ACTINOMYCOSE.

Le diagnostic bactériologique de l'actinomycose peut être assuré par la recherche directe de l'*Actinomyces* dans les lésions, ou, si ces lésions sont inaccessibles à un prélèvement, par les épreuves du sérodiagnostic.

Recherche du parasite. — ***Examen microscopique.*** — Prélever un grain jaune dans le pus fraîchement recueilli, l'écraser entre lame et lamelle dans une goutte de glycérine. Le microscope montre l'aspect de la figure 281.

On peut verser sur la lame une goutte de picrocarmin dans laquelle on dissocie le grain jaune. Après environ dix minutes de contact, on l'écrase avec une lamelle. Au microscope, le parasite apparaît avec sa forme caractéristique ; les massues sont teintées en jaune ; les cellules sont roses.

On peut encore observer le parasite après coloration : écraser le grain sur une lame, laisser sécher, fixer par l'alcool-éther et colorer par le Gram composé ou la méthode de Ziehl.

Habituellement, le seul examen microscopique, en montrant l'existence de l'*Actinomyces*, assure le diagnostic.

Culture. — Si l'on veut recourir à la culture, il faut employer un artifice qui permet d'éliminer les bactéries banales de la suppuration, associées à l'*Actinomyces* :

Ensemencer des grains jaunes sur un tube de gélose ou de gélatine inclinée. Après deux jours d'étuve, les colonies apparaissent autour de certains grains ensemencés ; d'autres, au contraire, ne sont entourés d'aucune colonie satellite ; à l'aide d'une öse forte, on recueille ces derniers et on les reporte sur un tube de sérum coagulé. Après cinq à six jours d'étuve à 37°, la culture se développe, habituellement pure.

Sérodiagnostic. — Quand on soupçonne une actinomycose viscérale profonde, inaccessible au prélèvement, le diagnostic peut être éclairé par l'agglutination et la réaction de fixation.

Agglutination. — L'agglutination, on l'a vu plus haut, peut être recherchée avec une culture d'*Actinomyces* ; on utilise alors le pouvoir coagglutinant du sérum d'actinomycosique sur les spores de *Sporotrichum Beurmanni* ; le taux d'agglutination peut s'élever à 1/100 et 1/250.

Fixation du complément. — On peut encore, suivant la tech-

nique exposée plus haut, mettre en présence le sérum du malade et une culture broyée d'*Actinomyces* conservée au laboratoire. Pour Widal et ses élèves, cette réaction est constamment positive dans toutes les atteintes en pleine évolution.

On sait qu'elle s'obtient encore avec l'*Actinomyces* et le sérum de sporotrichosique.

ACTINOBACILLOSE.

L'*actinobacillose* sévit chez les bovidés de la République Argentine. Elle se manifeste sous la forme d'abcès froids siégeant au niveau de la gorge et de la langue, et donnant issue à un pus blanc laiteux, parfois verdâtre, véhiculant de petits grumeaux blanc grisâtre.

Cette affection reconnaît pour cause un germe voisin de l'actinomycose, découvert par Lignières et Spitz. Ce germe peut infecter l'homme (Ravaut et Pinoy).

Ce parasite, examiné dans le pus, se montre sous l'aspect d'amas coccobacillaires et de *formes en massue*. Il se colore de préférence par une couleur basique (thionine, bleu de méthylène, fuchsine).

Dans les cultures, il prend la forme d'un coccobacille ou d'un diplocoque ; en bouillon, il donne souvent des chaînettes.

L'Actinobacille se développe à 37° dans les milieux artificiels.

En *bouillon*, culture maigre ; trouble léger, puis dépôt léger au fond du tube. Quand la culture est ancienne, un voile se forme à la surface.

Sur *gélose*, au bout de vingt-quatre heures, colonies petites, bleuâtres, translucides, devenant opaques dans la suite.

L'inoculation reproduit l'infection chez le bœuf et le mouton, sous la forme d'abcès multiples où les formes massuées abondent.

CHAPITRE LVI

CHAMPIGNONS DU PIED DE MADURA

En 1894, H. Vincent signalait dans l'affection dite « pied de Madura», dénommée ultérieurement « mycétome » par Laveran, et qui n'est autre en réalité qu'une lymphangite mycosique, l'existence d'un *Streptothrix*; on le crut tout d'abord seul responsable de cette lésion; mais les recherches ultérieures de Wright, Laveran, Bouffard, Ch. Nicolle, Brumpt démontrèrent que le mycétome pouvait être dû à des champignons voisins du *Streptothrix Maduræ*, comme aussi à des Aspergillés. On décrivit d'ailleurs plusieurs types de mycétomes: à grains blancs, à grains noirs, à grains rouges.

« STREPTOTHRIX » OU « OOSPORA MADURÆ ».

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Dans les grains ou grumeaux que contient le pus issu des nodosités caractéristiques du pied de Madura, on constate l'existence de filaments mycéliens très grêles, sinueux ou droits, très souvent enchevêtrés, ne présentant jamais ni crosses ni massues; à la périphérie des bouquets qu'ils forment, ils prennent une disposition rayonnée.

Observés dans les cultures, ils présentent un aspect identique, mais, quand celles-ci ont séjourné deux semaines à l'étuve, les rameaux fructifères se chargent de spores ovoïdes.

Coloration. — Le champignon prend toutes les couleurs d'aniline ; *il prend le Gram.*

CULTURES.

Aérobie strict, *Streptothrix Maduræ* se développe entre 20° et 40°. La température optima égale 37°. Dans les milieux usuels, il pousse faiblement ; il préfère les infusions végétales.

Bouillon. — Culture grêle, montrant au bout de douze à quinze jours des grumeaux grisâtres; le milieu ne se trouble pas.

Gélatine. — Culture blanche et grêle. Pas de liquéfaction.

Gélose glucosée glycérinée. — Culture abondante; colonies

saillantes, d'aspect vernissé, blanc jaunâtre, puis rose et rouge (fig. 284). Les colonies isolées s'ombiliquent, le centre restant blanc, la périphérie devenant rougeâtre.

Pomme de terre. — Colonies d'aspect mûriforme prenant naissance vers le cinquième jour ; vers le vingt-cinquième ou trentième jour, elles prennent une teinte rose qui, plus tard, devient rouge vif, surtout sur les pommes de terre acides. Sur certaines colonies, on remarque comme une poussière blanche formée de spores.

Infusion de paille et de foin. — Vers le quatrième jour apparaissent des flocons grisâtres qui augmentent de volume, au fur et à mesure du séjour à 37°, pour atteindre celui d'un pois; ils adhèrent aux parois du vase, d'autres tombent au fond. Après quatre à huit semaines, ceux qui occupent la surface se teintent en rose, puis en rouge; à la surface, on note une efflorescence blanchâtre constituée par des spores. Le milieu ne se trouble pas.

Lait. — Le champignon s'y développe sans déterminer de coagulation.

On connaît mal encore les propriétés biologiques de ce germe, sauf la longue durée de sa vitalité dans les cultures. Tous les animaux sont réfractaires à l'inoculation expérimentale.

Fig. 284. — Culture de *Streptothrix Maduræ* (Macé) sur gélose glucosée glycérinée.

AUTRES PARASITES.

« **Aspergillus nidulans** », — Nicolle, à Tunis, a observé un cas de mycétome à grains blancs d'où il a isolé un champignon que Pinoy a identifié avec le *Sterigmatocystis nidulans,* constitué par de gros filaments cloisonnés.

« **Aspergillus Bouffardi** ». — Bouffard a observé ce parasite dans le mycétome à grains noirs qui sévit à Djibouti et dans l'Inde. Ce champignon est constitué par des filaments irréguliers cloisonnés d'aspect blanc d'argent, qui sécrètent un pigment noir. On n'a pu obtenir de cultures.

Les grains sont entourés de cellules géantes et de cellules épithélioïdes.

« **Madurella mycetomi** ». — Étudié par Laveran dans le mycétome noir. Les filaments sécrètent un pigment brun.

On connaît encore **Indiella Mansoni**, décrit par Brumpt, **Indiella Reynieri,** provenant d'un cas observé à Paris par Reynier.

Fontoynont et Carougeau, Gougerot ont décrit également un parasite semblable (*Nocardia Carougei*) chez un malade de Madagascar, atteint de nodosités juxta-articulaires.

CHAPITRE LVII

STREPTOTHRIX ASTEROIDES

Organisme découvert par Eppinger dans un cas de méningite suppurée consécutive à un abcès du cerveau. Almquist, Schabad, Mac Callum l'ont retrouvé dans plusieurs faits assez semblables.

Les descriptions de Sabrazès et Rivière d'un parasite semblable dans une mycose à abcès sous-cutanés, cérébraux, pulmonaires, etc. multiples, par Bucholz dans une bronchopneumonie suivie de pleurésie purulente, etc. semblent se rapporter au même germe. Il en fut de même d'un cas d'Aoyama et Miyamato. On a proposé de les réunir tous sous le vocable : *Discomyces* ou *Nocardia Eppingeri*, pouvant reconnaître plusieurs variétés.

Streptothrix asteroïdes se manifeste, dans le pus, sous l'aspect de filaments ramifiés de 2 μ de large environ.

Dans les cultures, il présente des formes filamenteuses, des formes ramifiées et des formes rondes, ces dernières n'étant autres que des spores. Ces filaments, quand la culture est âgée, contiennent des granulations cubiques et arrondies, séparées les unes des autres par des vacuoles.

Streptothrix asteroïdes prend bien les couleurs d'aniline. Il prend le Gram ; comme le Bacille tuberculeux, il retient la fuchsine de Ziehl, mais se décolore plus facilement que lui sous l'influence des acides.

Il se cultive assez bien en milieu ordinaire ; le milieu de choix est la gélose sucrée à 2 p. 100 ; il forme des colonies verruqueuses blanchâtres, qui, au bout de quelque temps, prennent une coloration rouge ocre, alors que leur surface prend un aspect ridé et plissé.

Ce Streptothrix est inoculable au lapin et au cobaye : ceux-ci contractent une infection pseudo-tuberculeuse ; le germe est très abondant dans les tubercules formés.

CHAPITRE LVIII

SPOROTRICHUM BEURMANNI

Sporotrichum Beurmanni est l'agent pathogène d'une affection longtemps confondue avec la tuberculose ou la syphilis, et caractérisée par la production de gommes multiples, disséminées, se ramollissant, puis s'abcédant : c'est la *sporotrichose*.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Observé dans le *pus* ou les *tissus*, le parasite présente une forme courte, ovalaire ou fusiforme et ressemble à une levure (fig. 286). Il est long de 3 à 5 μ, large de 2 à 3 μ.

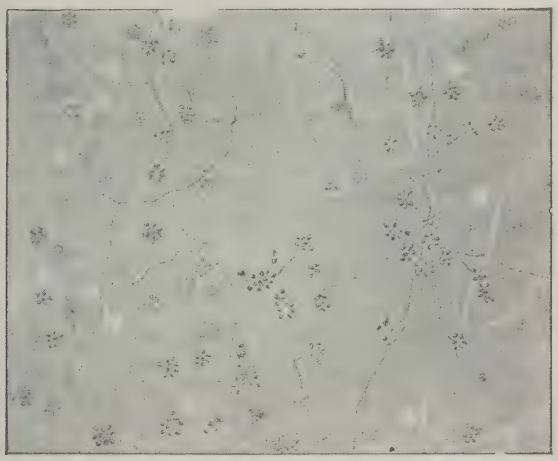


Fig. 285. — Aspect microscopique du *Sporotrichum Beurmanni* en culture sur lame sèche ou en goutte pendante (de Beurmann et Gougerot).

Dans les *cultures* (fig. 285), le germe est représenté par un *mycélium* et des *spores*.

Le mycélium est constitué par des filaments longs, fins, incolores, irrégulièrement ramifiés, larges de 2 μ.

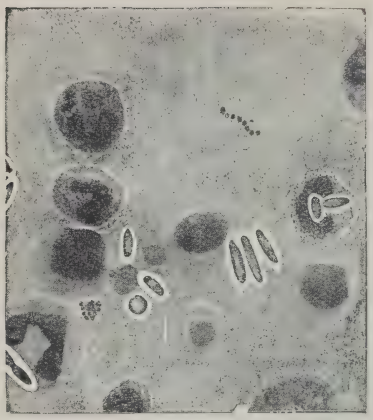


Fig. 286. — Aspect microscopique du *Sporotrichum Beurmanni* dans les lésions : formes courtes oblongues. Diagnostic de la sporotrichose par l'examen direct sur lame du pus ou des tissus (d'après de Beurmann et Gougerot).

Les spores sont ovoïdes, pigmentées, mesurant 5 à 6 μ de long sur 3 à 4 μ de large; elles s'attachent isolément par un pédicule très court sur les filaments, s'implantant ainsi latéralement ou se groupant à leur extrémité sous forme de bouquets glomérulaires.

Coloration. — *Sporotrichum Beurmanni* se colore aisément par les couleurs d'aniline; le bleu de Unna donne de bonnes préparations. Il *prend le Gram.* Pinoy et Magrou, avec la méthode de Claudius (fig. 287) ont observé une différenciation qui le met nettement en évidence, notamment dans les tissus, où les éléments sont parfois disséminés et risquent de passer inaperçus.

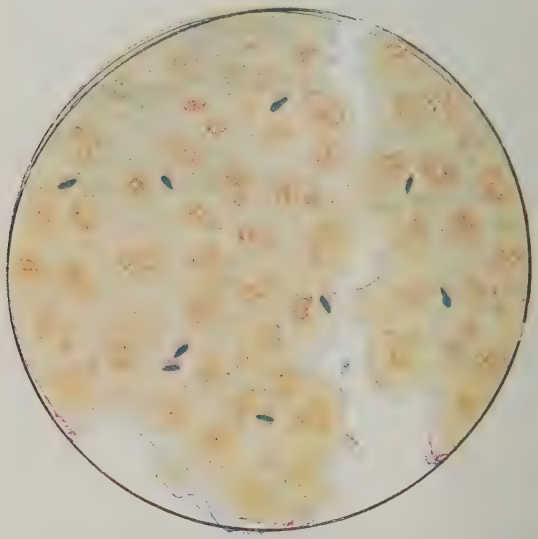


Fig. 287. — *Sporotrichum Beurmanni* dans un abcès hépatique. Différenciation par la méthode de Claudius.

CULTURES.

Le parasite de la sporotrichose est aérobie : il pousse à la température du laboratoire, mais mieux de 20° à 30°. Les cultures restent stériles si la culture est portée à l'étuve à 37°.

Les milieux ordinaires lui conviennent peu ; mais, sur milieux glucosés ou glycérinés, la culture est abondante.

Bouillon glucosé. — La culture en bouillon glucosé se manifeste par l'apparition d'un voile blanc à la surface ; il tombe, mais bientôt se renouvelle ; le bouillon reste clair. Dans les cultures anciennes, le voile prend une teinte brunâtre.

Gélose glucosée de Sabouraud. — C'est le milieu de choix ; il est constitué selon la formule suivante :

Gélose.....	10 grammes.
Peptone	10 —
Glucose.....	40 —
Eau.....	1 litre.

A B

Fig. 288. — Culture de *Sporotrichum Beurmanni* sur gélose Sabouraud.
A, variété noire ; B, variété blanche.

Le pus sporotrichosique, ensemencé en tubes inclinés, *non capuchonnés, et laissés à la température du laboratoire*, donne au bout de quelques jours des colonies d'aspect caractéristique : elle se montrent d'abord sous forme de petites taches saillantes, blanc bleuté, « finement circonvolvées », et entourées d'une auréole plate. Elles prennent vers le sixième jour, une teinte brun-chocolat, l'auréole restant blanche et se recouvrant d'une poussière blanche (fig. 288).

Carotte glycérinée. — Au troisième jour, les colonies apparaissent, formant, par leur confluence, une couche uniforme blanche, puis brune, qui se plisse et se recouvre comme d'une poudre blanche.

Sur betterave glycérinée, les caractères sont identiques.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Production de toxine. — *Sporotrichum Beurmanni* élabore dans les cultures des produits toxiques qu'on a mis en évidence par les épreuves de la *cuti-réaction* (Bruno-Bloch), de la *sous-cuti-réaction* (Pautrier et Lutembacher), de l'*intra-dermo-réaction* (de Beurmann et Gougerot).

La sporotrichosine, obtenue par broyage de corps microbiens tués à 120°, provoque par ces diverses méthodes d'inoculation une réaction locale; cette dernière, toutefois, n'est pas douée d'une spécificité absolue, car elle se produit parfois chez des sujets atteints d'une *mycose étrangère à la sporotrichose.*

Réaction vis-à-vis du sérum des malades. — ***Agglutination.*** — Les spores du parasite sont agglutinées par le sérum des malades atteints de sporotrichose (Widal et Abrami). Mais il faut savoir aussi que ce sérum est pourvu de *coagglutinines* vis-à-vis des cultures de divers *oospora*, de l'*Endomyces albicans*, des *Oïdium*, des *Trichophyton*. Enfin les spores de *Sporotrichum* sont agglutinables encore par le sérum de sujets atteints d'actinomycose.

Fixation du complément. — Mises en présence du sérum de sporotrichosique, les spores de *Sporotrichum* fixent le complément (réaction de Bordet-Gengou). Cette réaction s'opère encore (cofixation) avec les parasites de l'actinomycose et du muguet. De plus, la cofixation s'effectue aussi en présence du sérum d'actinomycosique au même titre qu'avec l'*Actinomyces*, l'*Endomyces*, etc.

Précipitation. — Elle a été signalée par Widal, Sicard et Gougerot dans les produits de filtration des cultures.

Opsonisation. — Le sérum des sporotrichosiques exerce aussi une influence opsonisante sur les spores du parasite (Milhit).

POUVOIR PATHOGÈNE.

Chez l'homme. — Chez l'homme, *Sporotrichum Beurmanni* peut vivre en saprophyte dans les cavités naturelles, mais, sous l'influence de causes occasionnelles, il envahit l'organisme. En général, l'infection prend naissance à la suite de l'inoculation du parasite par l'intermédiaire de débris végétaux, véhicules du champignon, ou des objets souillés par ces débris (Gougerot a pu, en effet, déceler le parasite sur la coque d'avoine et de prêles).

L'inoculation peut s'effectuer soit par la *voie cutanée*, soit par la *voie digestive.*

La pullulation du germe dans l'organisme humain engendre la

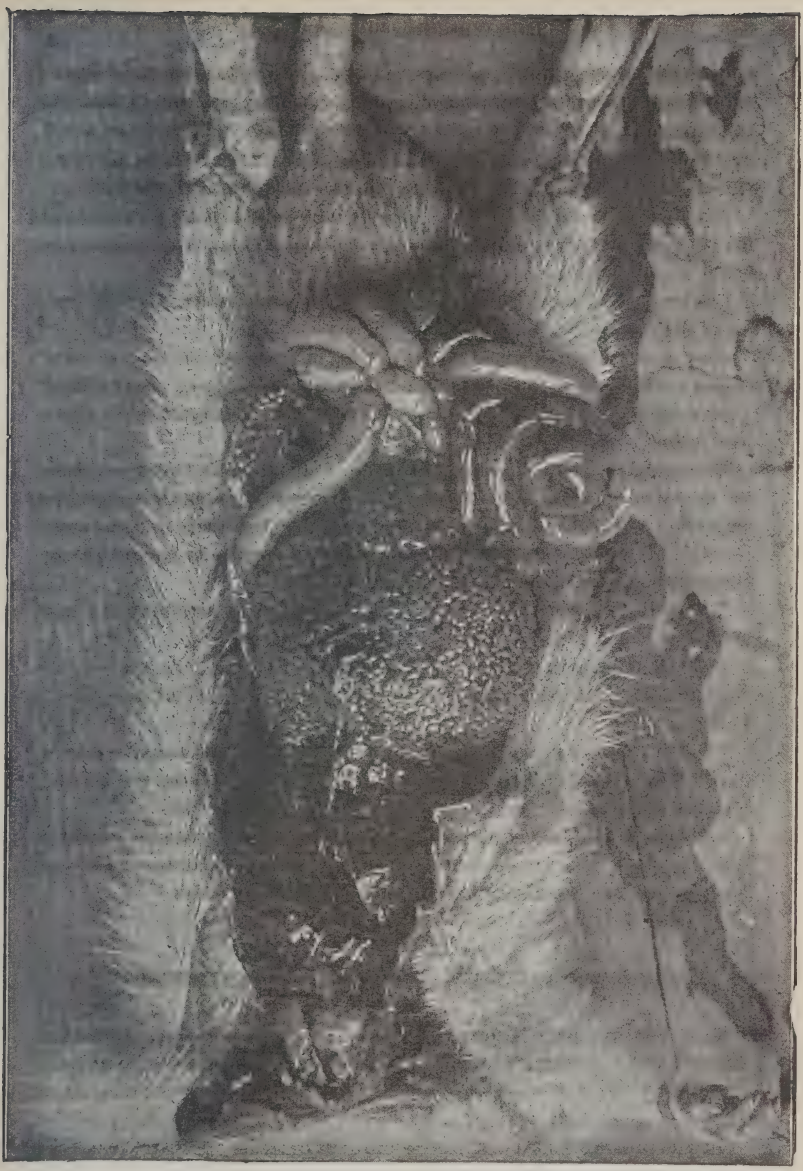


Fig. 289. — Granulie sporotrichosique généralisée du rat.

Le foie, la rate sont criblés de granulations fines et serrées ; les granulations sont généralisées dans tous les viscères et même dans l'hypoderme et le derme ; on voit ici les granulations sur le foie, la rate, l'intestin, les poumons, le cœur, le médiastin (de Beurmann et Gougerot).

sporotrichose avec toutes ses formes cliniques : elle atteint les téguments sous forme de gommes cutanées disséminées, qui s'abcèdent et s'ulcèrent, de chancre localisé, de lymphangite. Elle peut aussi ranchir les limites du tégument externe et atteindre les muqueuses, les muscles, les os, les synoviales tendineuses, les articulations.

Inoculations à l'animal. — Le rat et la souris sont les animaux les plus réceptifs à la sporotrichose expérimentale. On peut infecter aussi le singe, le cobaye, le lapin, le chat et le chien.

L'inoculation peut s'effectuer par les diverses voies habituelles, voire même la voie digestive.

Chez le rat, l'inoculation de pus sporotrichosique ou de cultures engendre des sporotrichoses septicémiques, granuliques, généralisées à tous les viscères (fig. 289), des sporotrichoses subaiguës avec abcès multiples.

De Beurmann et Gougerot ont observé des localisations sur tous les organes et tissus, avec *toutes les variétés de réactions histologiques possibles* : « granulations, tubercules, gommes, infiltrats lympho-conjonctifs et abcès polynucléaires, follicules, réactions parenchymateuses, dégénérescence et nécroses, scléroses ».

L'inoculation dans le péritoine réalise parfois la production d'une *orchite*.

Chez le chien, on peut reproduire les mêmes lésions, mais plus particulièrement la septicémie aiguë avec néphrite et albuminurie, l'ostéite.

Chez le lapin, on observe surtout des lésions pulmonaires avec nodules, cavernes, bronchectasies, etc. ; on rencontre encore des lésions hypertrophiques du cæcum, des lésions rénales.

Le *singe* et le *cobaye nouveau-nés* présentent les mêmes variétés d'altérations. Il en est de même chez le *chat*, où l'on observe surtout de nombreuses localisations gommeuses sous-cutanées.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA SPOROTRICHOSE.

Recherche du « Sporotrichum Beurmanni ». — *Examen direct.* — Au niveau d'une gomme ramollie, ou d'un abcès, faire une ponction à l'aide d'une seringue stérile ; par aspiration on ramène du pus.

Examiner à l'état frais, entre lame et lamelle. — Entre les polynucléaires et les macrophages, on remarque la présence de *Sporotricha* courts, oblongs, entourés d'une auréole translucide. Mais, en général, ces éléments sont rares ; d'après de Beurmann et Gougerot,

cette méthode ne saurait convenir à tous les cas pour faire un diagnostic précis.

Examiner après coloration. — L'examen après coloration par le Gram n'est pas plus sûr, car les *Sporotricha* se distinguent difficilement des noyaux dégénérés des globules de pus. Nous avons vu que Pinoy et Magrou préféraient la méthode de Claudius, qui différencie nettement les parasites. Néanmoins l'épreuve est encore souvent difficile en raison de la rareté habituelle des *Sporotricha* dans le pus.

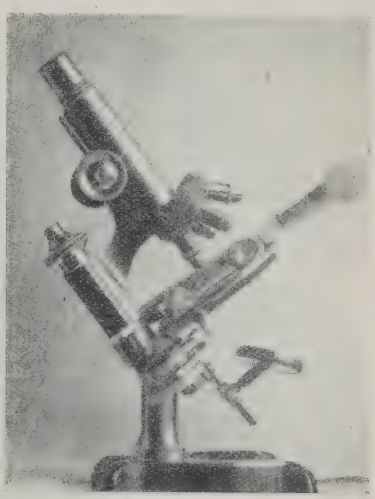


Fig. 290. — Disposition à prendre pour observer le *Sporotrichum Beurmanni* dans la couche de pus sur le verre (de Beurmann et Gougerot).

Cultures. — Ensemencer le pus sur gélose de Sabouraud. Mettre à l'étuve à 22°, en ayant soin de ne pas capuchonner les tubes. Examiner les colonies par la technique habituelle. Elles se montreront composées du mycélium et des spores suivant la description déjà faite.

Gougerot conseille l'*artifice de la couche de pus sur le verre sec.* Voici en quoi consiste cette méthode :

Au moment de l'ensemencement sur le milieu de Sabouraud, on a soin de laisser couler une traînée de pus sur le verre, en face de la gélose, et dans l'angle limité par la surface du milieu et la paroi concave du tube.

Laisser à l'étuve à 22° ; les germes se développent dans la rigole inférieure et à la surface du verre grâce à la petite quantité de gélose qui imprègne le verre après la fusion du milieu; il se forme ainsi des *étoiles parasitaires* visibles au microscope et même à l'œil nu.

L'examen au microscope s'effectue, comme le représente la figure 290, en ayant soin d'incliner la platine et le tube pour éviter que l'eau de condensation ne baigne la culture. Observer avec un objectif n° 4 et un oculaire 6 ou 8 les étoiles parasitaires. Au milieu des globules de pus, on perçoit des *Sporotricha* qui germent et poussent des filaments mycéliens (fig. 291), dont l'existence assure le diagnostic.

Inoculation. — Le diagnostic peut être complété par l'inoculation à l'animal (rat ou souris), mais cette épreuve est le plus souvent

inutile, l'examen des cultures donnant une réponse habituellement peu douteuse.

Sérodiagnostic. — *Sporo-agglutination*. — Le diagnostic peut être assuré par la sporo-agglutination. La technique est un peu

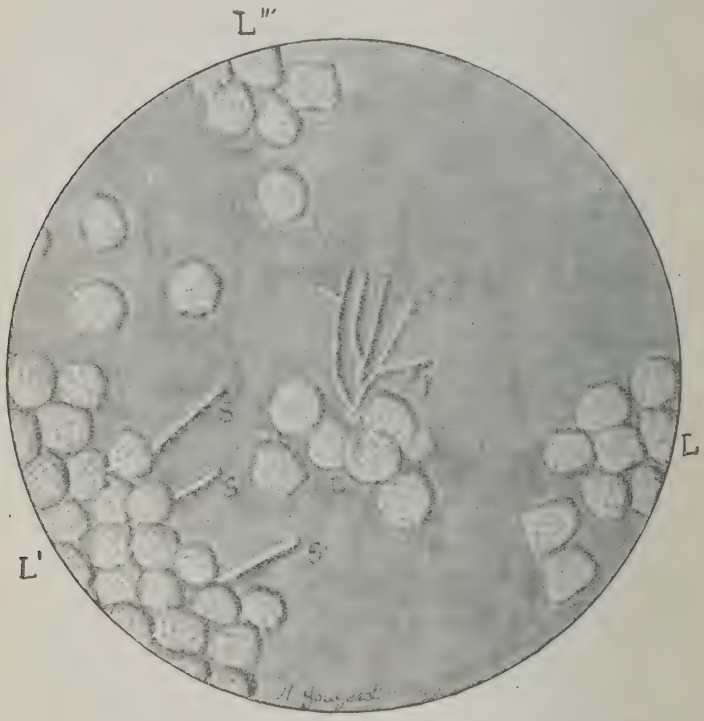


Fig. 291. — Aspect de *Sporotrichum Beurmanni* lors de l'examen du pus sur verre sec (de Beurmann et Gougerot).

spéciale en raison de ce fait que les spores seules représentent les éléments agglutinables du parasite.

Prélever un grumeau d'une culture de *Sporotrichum* sur milieu de Sabouraud âgée de quatre à six semaines; le broyer à sec dans un mortier, délayer la poudre obtenue dans une petite quantité d'eau physiologique; filtrer sur papier, pour obtenir le mycélium et laisser passer les spores. Dans un verre de montre, on mélange à des taux divers (1 p. 100, 200, 300, 400, 500) le filtrat et le sérum du malade. Prélever une goutte du mélange et examiner entre lame et

lamelle; on observe, s'il s'agit de sporotrichose, des amas de spores qui figurent une agglutination très nette (fig. 292).

Fixation du complément. — On emploie dans ce but la technique de Bordet-Gengou, appliquée au cas particulier par Widal et ses élèves

Dans un tube on mélange 1 centimètre cube de sérum à éprouver, chauffé à 56° pendant une demi-heure, 0cc,5 de l'émulsion de *Sporotrichum* (sans

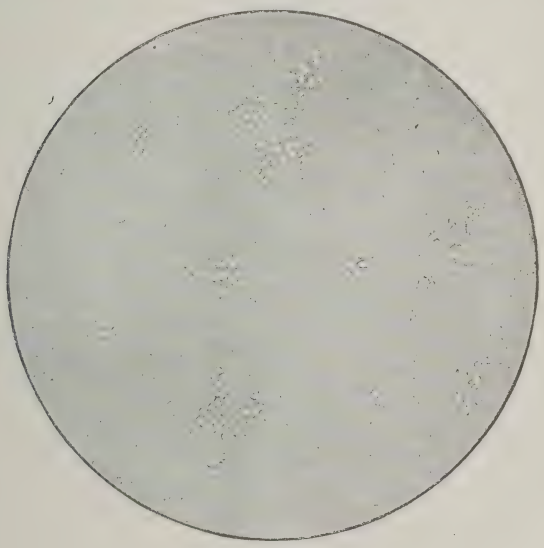


Fig. 292. — Sporo-agglutination.

filtration préalable), 0cc,2 de sérum alexique de cobaye dilué à moitié d'eau physiologique, enfin 0cc,5 d'eau physiologique.

Porter à l'étuve à 37° pendant quatre heures.

Ajouter ensuite le système hémolytique suivant : 0cc,3 de sérum de lapin anti-mouton chauffé à 56°, 0cc,1 d'hématies lavées de mouton, diluées dans 0cc,5 d'eau physiologique.

Si l'hémolyse se produit, le complément n'a pas été fixé et l'épreuve est négative ; si l'hémolyse est nulle, le complément a été fixé par le *Sporotrichum*, et le malade est bien atteint de sporotrichose.

Cutiréaction, subcuti et intradermo-réaction. — Enfin, pour le diagnostic, on peut utiliser les réactions des sporotrichosiques à l'inoculation des toxines du parasite, comme elles ont été définies plus haut.

Ces opérations s'effectuent à l'aide d'une macération de cultures de sporotrichose, âgées de trois semaines environ, et tuées par chauffage à l'autoclave à 120° pendant deux heures. A la suite de la *sous-cuti-réaction*, on observe chez les sporotrichosiques la production d'une nodosité du volume d'une noisette ; la peau qui la recouvre est rosée, peu douloureuse. Cette réaction dure six à huit jours. Vingt-quatre heures après l'*intradermo-réaction*, prend naissance une papule grosse comme une lentille, rouge, infiltrée, durant six à huit jours.

Mais, comme il a été dit plus haut, ces réactions ne sont pas toujours spécifiques.

CHAPITRE LIX

SACCHAROMYCES ALBICANS

Saccharomyces albicans, appelé encore *Oïdium albicans*, *Endomyces albicans*, a été découvert par Ch. Robin. C'est une levure pathogène, qui provoque le *muguet*.

MORPHOLOGIE.

Le parasite du muguet se montre, dans les plaques blanches crémeuses qui constituent la maladie, sous la forme de filaments de 50 à 60 μ sur 2 à 5 μ de large; ils sont tubuleux, ramifiés, divisés en articles de 30 à 50 μ. A côté de ces filaments, on remarque des cellules ovalaires, qui bourgeonnent comme des levures, témoin ces levures filles rattachées à la cellule mère par un pédicule.

Pour Linossier et G. Roux, la levure représenterait le mode végétatif normal du parasite ; le filament ne prendrait naissance que quand il est soumis à des conditions défectueuses de vitalité, comme on l'observe, par exemple, dans l'organisme humain ou en des milieux très alcalins.

Dans les cultures, l'aspect varie suivant le milieu employé. Sur bouillon, la morphologie est semblable à celle qu'on observe dans la plaque du muguet.

En milieux solides, les seuls éléments sont les cellules ovalaires; elles sont irrégulières et groupées souvent en amas irréguliers.

Dans le vin, les filaments sont seuls perceptibles.

En milieu de Nægeli, l'aspect est particulier : on voit des chapelets de corpuscules ovalaires terminés à l'extrémité par des chlamydospores, qui peuvent, sur d'autres milieux, donner naissance à des filaments ; ce sont en réalité des formes de résistance du parasite. Ces dernières se trouvent encore sous l'aspect de globules que l'on voit à la périphérie, ou même dans le corps même des filaments. Enfin signalons que l'organe reproducteur est constitué par des *asques* contenant des *ascospores*.

CULTURES.

Le parasite du muguet est un aérobie strict : il cultive aisément sur tous les milieux entre 28° et 39°. Il préfère les milieux acides ou neutres. Une alcalinité trop accusée est préjudiciable à sa vitalité.

Bouillon. — Le *Saccharomyces albicans* forme des grumeaux blancs sans troubler le milieu. L'aspect est identique dans le vin ou le milieu de Nægeli.

Gélatine. — Les colonies se montrent sous forme de taches blanches, perlées, restant habituellement petites. Pas de liquéfaction du milieu.

Gélose. — Sur *gélose acide*, les colonies sont volumineuses, blanches, lisses et étalées, et par confluence forment une nappe unie, non adhérente au milieu.

Sur *gélose alcaline*, elles prennent un aspect granuleux et chagriné. Ce sont les formes filamenteuses qui dominent.

Pomme de terre. — Les colonies sont saillantes, de teinte blanc sale; certaines d'entre elles sont tachées de noir.

Carotte. — Culture abondante, rapide, d'un blanc éclatant.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Les propriétés biologiques de ce champignon sont mal connues. Roger et Grasset ont montré cependant que sa virulence s'atténuait rapidement dans les milieux artificiels, et qu'elle s'accroissait par des passages successifs chez l'animal.

D'après Charrin et Ostrowsky, les cultures contiendraient des produits toxiques.

Des travaux récents ont mis en évidence les réactions que le parasite subit en présence du sérum d'animaux vaccinés ou des sujets atteints de muguet.

Roger a démontré que le sérum d'un lapin vacciné par des cultures vivantes était agglutinant.

Widal et ses élèves n'ont jamais observé d'agglutination supérieure à 1/40 ou 1/50 avec le sérum des malades ou les cultures de *Saccharomyces albicans*. Ce même sérum contient, par contre, des agglutinines abondantes pour les spores de *Sporotrichum Beurmanni* (coagglutinations positives à 1/100 et même 1/150).

De plus, le *Sporotrichum Beurmanni* fixe le complément en présence du même sérum. Inversement, une émulsion d'*Oïdium albicans* fixe

le complément en présence du sérum de sujets sporotrichosiques et actinomycosiques (co-fixation).

HABITAT ET POUVOIR PATHOGÈNE.

L'*Oïdium albicans* est répandu dans l'air et les poussières et arrive facilement en contact avec les voies respiratoires et la muqueuse buccale de l'homme. Il ne peut s'y développer cependant que si la salive est acide, ou si l'organisme est débilité.

Il détermine, au niveau de la muqueuse bucco-pharyngée, l'enduit crémeux, caractéristique du muguet. Il peut envahir aussi l'estomac, l'œsophage, l'anus, la vulve. Plusieurs auteurs l'ont vu provoquer des suppurations gingivales, parotidiennes, sous-maxillaires. Enfin il peut, d'après Virchow, Zenker, Wagner, Roger, etc., occasionner de véritables septicémies au cours desquelles il colonise dans les viscères et provoquer une véritable pseudo-tuberculose.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE.

L'inoculation *sous-cutanée* produit chez le lapin un abcès local dont la durée est longue; il en est de même, chez cet animal, de l'inoculation dans la chambre antérieure de l'œil.

Injecté *dans les veines*, il peut amener une mycose généralisée envahissant les viscères et amenant la mort.

Le cobaye paraît plus sensible que le lapin. L'inoculation dans le péritoine produit une péritonite avec fausses membranes; dans la plèvre, elle provoque un épanchement, et le champignon envahit la circulation.

INOCULATION EXPÉRIMENTALE.

Recherche du parasite. — Prélever une parcelle d'enduit crémeux. La dissocier dans une goutte de liquide de Gram (solution iodo-iodurée). Recouvrir d'une lamelle : la levure se colore en brun; ou bien faire la dissociation dans l'acide acétique, qui rend le parasite assez visible en faisant pâlir les cellules épithéliales.

Enfin on peut colorer les frottis désséchés, en utilisant les couleurs d'aniline que fixent les éléments cellulaires des parasites.

Sérodiagnostic. — On peut, d'après Widal, Abrami, Joltrain, etc., utiliser pour le diagnostic les *propriétés agglutinantes* du sérum du malade sur les spores du *Sporotrichum Beurmanni*, qui sont agglutinées à un taux plus élevé que les cultures d'*Oïdium albicans*.

De même encore, on peut effectuer la *réaction de fixation* en mettant des cultures de muguet avec le sérum du malade. Une réaction positive impose le diagnostic.

CHAPITRE LX

CRYPTOCOCCUS FARCIMINOSUS

(AGENT PATHOGÈNE DE LA LYMPHANGITE ÉPIZOOTIQUE).

La lymphangite épizootique atteint le cheval presque exclusivement; elle est rare chez le mulet. C'est une affection suppurante et ulcéreuse déterminée par un parasite spécifique : *Cryptococcus farciminosus*, découvert par Rivolta.

Elle fait suite à une plaie infectée, sans tendance à la cicatrisation, à caractère ulcéreux, limitée par des bords bourgeonnants se renversant en « cul-de-poule ».

Après un temps variant de huit jours à deux mois, apparaissent des accidents locaux sous forme de boutons, de cordes, de tumeurs, d'engorgements, toutes manifestations douloureuses à la pression, et se développant aux dépens du système lymphatique infecté. Les boutons, gros comme une noisette, s'abcèdent et s'ulcèrent; ils s'observent sur le trajet des cordons lymphatiques qui s'épaississent et s'indurent pour constituer les cordes farcineuses. Le processus se généralisant, il s'étend en suivant la voie centripète et provoque la formation de tuméfactions ganglionnaires plus ou moins volumineuses (ganglions pré-pectoraux, pré-scapulaires, inguinaux), pouvant s'abcéder et suppurer. L'affection est tenace et contagieuse.

MORPHOLOGIE DU PARASITE.

Le parasite est un blastomycète (et non un protozoaire, comme certains l'ont prétendu); on le rencontre dans les lésions de date récente, comme dans les lésions déjà anciennes. Dans ces dernières, en raison de la suppuration qui les accompagne, les cryptocoques sont mêlés aux éléments du pus et souvent inclus dans les leucocytes, ce qui a fait supposer à tort que l'agent pathogène était un parasite leucocytaire. Dans les lésions jeunes, où les leucocytes sont rares, les cryptocoques sont libres et nombreux au point qu'une nodosité de volume minime ressemble à une colonie de cryptocoques.

Aspect du parasite. — Le cryptocoque se présente sous l'aspect de cellules revêtant une forme ovale et elliptique, parfois « en citron », limitées par une membrane d'enveloppe, épaisse, accusée par un double contour, réfringente à l'état frais. Un certain nombre

d'entre elles présentent des bourgeonnements, qui sont indiscutablement des formes de reproduction. Bref le parasite présente, au point de vue morphologique, une analogie très étroite avec une levure (Gasperini, puis Bridré, L. Nègre et Trouette).

Coloration. — Le cryptocoque se colore assez difficilement par les méthodes ordinaires; il prend le Gram, mais un certain nombre d'éléments restent incolores.

Il se colore mieux par la méthode de Claudius. Bridré, Nègre et

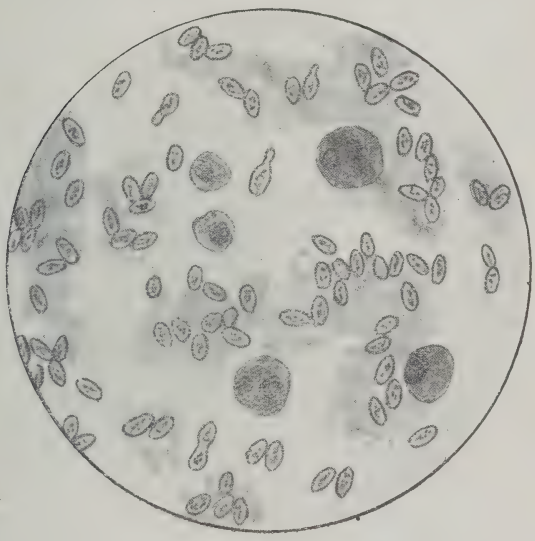


Fig. 293. — Cryptocoque dans le pus d'un ulcère.

Trouette conseillent de prolonger pendant une heure le contact avec le violet de gentiane et l'acide picrique, et de décolorer ensuite à l'aide du chloroforme ; le parasite apparaît teinté en bleu violet.

Des résultats favorables sont également obtenus avec le bleu de toluidine et la méthode de Giemsa avec différenciation au tanin.

CULTURES.

La culture de *Cryptococcus farciminosus*, après une foule d'essais infructueux, a été réalisée pour la première fois par Nègre et Boquet. Ces auteurs avaient déjà obtenu une certaine pullulation du parasite dans le liquide de condensation de divers milieux (sérum

de cheval ou de mouton coagulé et glycériné à 6 p. 100 ; gélose-sérum de cheval, gélose ordinaire, gélose au haricot, glucosée à 2 p. 100, non neutralisée). Ces cultures, mises à l'étuve à 25° ou 30°, montraient, du sixième au quinzième jour, un développement indiscutable de formations mycélienne, issues des bourgeons de cryptocoque. Après quatre repiquages (tous les quinze à vingt jours), la culture finissait par s'éteindre.

Gélose au crottin. — Préparation de ce milieu :

Faire macérer à froid pendant vingt-quatre heures 400 grammes de crottin de cheval sec, dans 2 litres d'eau ordinaire.

Filtrer sur tarlatane, exprimer et filtrer sur papier sans neutraliser. Ajouter 10 grammes de peptone et faire dissoudre 18 grammes de gélose pour 1 000 du liquide précédent.

Stériliser trente minutes à 120°. Filtrer. Ajouter 40 grammes p. 1 000 de glucose, répartir et stériliser vingt minutes à 115°.

Ensemencer la surface de ce milieu à l'aide d'une grosse goutte de pus prélevée dans un abcès clos des cordons lymphatiques. En quarante-huit heures, la culture se développe, mais n'est pas apparente; les repiquages restent négatifs. La formation de colonies et les repiquages peuvent être réalisés en répandant, après l'ensemencement, 20 gouttes d'un dépôt provenant d'une macération sucrée (20 grammes de glucose) de ganglions lymphatiques hachés finement (100 grammes). Etuve à 25°-30°.

Quatre à six semaines après, les premières colonies apparaissent : petites (une tête d'épingle), arrondies, saillantes, blanc grisâtre, légèrement duveteuses. En s'accroissant, elles deviennent plus proéminentes, festonnées, brunâtres, se parsèment de points blancs, deviennent adhérentes à la gélose, difficiles à dissocier.

Gélose de Sabouraud (recouverte de macération de ganglions). — A leur apparition, mêmes caractères que précédemment. Plus tard, les colonies prennent une teinte blanc jaunâtre, sablonneuse, et s'entourent d'une zone duveteuse blanche ; elles foncent en vieillissant.

Ces cultures peuvent être obtenues en série ; mais alors qu'au premier ensemencement la température de choix est de 25° à 30°, la température de 37° est plus favorable aux repiquages.

Quarante-huit heures après l'ensemencement, le cryptocoque s'arrondit, il se charge de gouttes d'huile et émet par bourgeonnement des tubes mycéliens qui se cloisonnent et s'accroissent pour atteindre une longueur totale de 75 à 100 μ. Aux extrémités et sur les ramifications des tubes, naissent de nouvelles formes rondes qui se séparent par une cloison et un étranglement

du mycélium qui les soutient, et se rendent libres, pour donner lieu à des formations identiques.

Lors des repiquages, les colonies sont constituées par des tubes mycéliens, à parois minces, étroits, cloisonnés, donnant des ramifications latérales ; il existe ainsi des ramifications secondaires et tertiaires ayant même épaisseur que le tube principal.

Ces filaments portent à leur extrémité de petits bourgeons piriformes dont la paroi, prend un double contour ; et qui se séparent du tube mycélien qui les porte par une cloison ; ils contiennent

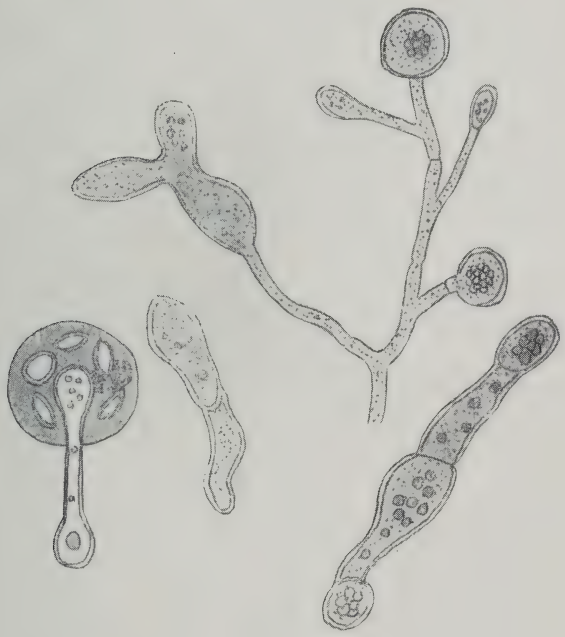


Fig. 294. — Cryptocoque dans les cultures (d'après Nègre et Boquet).

des gouttelettes huileuses. Ce sont les spores externes (Nègre et Boquet) ; à maturité, elles se détachent (4 à 12 μ de diamètre) et donnent naissance à des tubes mycéliens à double contour.

Au bout d'un certain temps, rien ne distingue plus les spores externes des formes arrondies des cryptocoques. Ces derniers paraissent être « une forme de multiplication de la spore externe dans l'organisme du cheval ».

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

L'inoculation de pus cryptococcique reproduit l'infection dans des conditions quasi naturelles.

Celle-ci peut être reproduite également chez le cheval par inoculation de cultures. Mais alors que les scarifications de l'épiderme et les injections intradermiques ne donnent que des abcès à cryptocoques localisés au point d'inoculation, l'injection *sous-cutanée* entraîne la généralisation du processus, la formation de cordes lymphatiques reproduisant trait pour trait l'infection, et donnant ainsi la preuve la plus irréfutable de la spécificité du cryptocoque.

Chez le lapin et la souris, Nègre et Boquet n'ont pu obtenir, au bout de cinq semaines, qu'un abcès au lieu de l'injection : les cryptocoques sont rares et extraleucocytaires.

IMMUNITÉ.

Un animal guéri d'une première atteinte naturelle est réfractaire à de nouvelles atteintes.

Cette immunité a été observée par Nègre et Boquet après l'infection expérimentale : chez des chevaux guéris de cette dernière, l'injection sous-cutanée ne développe plus qu'un œdème douloureux très passager, remplacé par des nodules de dimensions très réduites qui se résorbent spontanément ; une nouvelle injection est suivie de la formation d'un nodule qui s'abcède, mais le pus formé ne contient pas de cryptocoques.

La présence d'anticorps dans le sérum des chevaux ainsi guéris est d'ailleurs un témoin de cette immunité.

Bridré, Nègre et Trouette avaient déjà montré l'existence d'une sensibilisatrice dans le sérum mis en contact avec une émulsion de cryptocoques venant du pus ; en prenant comme antigène les cultures, les résultats sont identiques. La sensibilisatrice exerce également son action sur des cultures de *Sp. Beurmanni* et de levures. L'ambocepteur apparaît vingt jours environ après le début apparent de l'infection ; il persiste au moins pendant huit mois (Nègre et Boquet).

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE.

Ce diagnostic s'effectue par la mise en culture du pus des nodules farcineux, telle qu'elle a été décrite plus haut, et par la recherche de la fixation du complément.

CHAPITRE LXI

ASPERGILLUS FUMIGATUS

Ce champignon, qui se trouve à l'état saprophytique dans la nature, est aussi l'agent pathogène de l'infection dénommée *aspergillose*. Cette maladie s'observe chez l'homme et aussi chez certains animaux, comme les pigeons. Elle provoque des lésions pseudo-tuberculeuses. C'est à Dieulafoy, Chantemesse et Widal, Potain, Rénon, Gaucher et Sergent, Lucet, que revient le mérite de l'avoir étudiée et bien fait connaître en pathologie humaine.

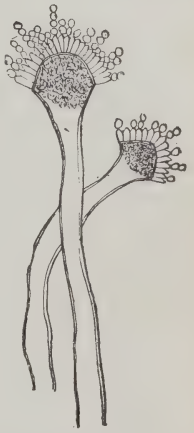


Fig. 295. — *Aspergillus fumigatus.*

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique — *Aspergillus fumigatus* appartient à l'ordre des Ascomycètes. A l'état adulte, il est constitué par des filaments mycéliens, formés « d'hyphes alternes, courts, un peu dilatés à leurs extrémités. Ce mycélium donne des rameaux stériles, cloisonnés et incolores et des rameaux fructifères, incolores ou légèrement colorés » (Rénon). Les rameaux fructifères sont renflés à leur extrémité, en forme de massues (hyphes ou tête sporifère). Sur cette tête, s'insèrent des cellules ou basidies, ayant la forme de quilles ou de boudins.

Chaque basidie s'étrangle et donne ainsi naissance à des chaînettes de spores arrondies, lisses, déhiscentes, de teinte brunâtre ou verdâtre.

Coloration. — Ce champignon fixe bien les couleurs d'aniline; *il prend le Gram.* On peut effectuer la coloration sur des frottis de crachats, des cultures, ou sur les coupes d'organes.

CULTURES.

Aspergillus fumigatus cultive bien en certains milieux artificiels, surtout le liquide de Raulin et le moût de bière. La température optima pour son développement égale 37° à 38°. C'est un aérobie strict.

Liquide de Raulin. — Dès la quinzième ou seizième heure, la culture s'est déjà développée : on observe de nombreux flocons. A la surface, la végétation est abondante ; la culture prend un aspect velouté et blanc ; plus tard, elle devient vert bleuâtre, puis noirâtre ; après cinq à six jours d'étuve, elle prend une teinte brune ou noire.

Le microscope montre des filaments mycéliens et de nombreuses spores.

Bouillon. — Développement minime et tardif ; dans le liquide, on n'observe que de rares fructifications ; les filaments mycéliens prédominent.

Gélose. — Au bout de quarante-huit heures, la culture apparaît sous la forme d'un enduit blanchâtre, qui bientôt verdit pour prendre une teinte vert foncé.

Gélatine. — Culture grêle et très lente, prenant l'aspect de petits flocons ; une légère liquéfaction se produit tardivement.

Pomme de terre. — Culture abondante et rapide, colorée en vert noir.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité, résistance. — Les spores sont douées d'une résistance énorme. Rénon a pu fertiliser des milieux neufs avec des cultures vieilles de quatre ans. Cependant elles sont tuées par la chaleur.

Les passages en milieux artificiels atténuent la virulence.

Toxine. — On a extrait des cultures d'*Aspergillus fumigatus* des produits toxiques pour certains animaux.

Cecci et Besta ont extrait une « toxine » de nature mal définie, qui supporte sans dommage la température de l'ébullition.

Des cultures très sporifères sont traitées par l'alcool à 90° ou par l'éther. On évapore : on obtient alors un produit jaune verdâtre, qui, traité ensuite par l'eau, devient très toxique.

Cette toxine tue le lapin et le chien en quelques heures ; les animaux présentent des tremblements, des contractures, des troubles respiratoires et circulatoires, qui rappellent ceux de la pellagre.

Bodin et L. Gautier cultivent le parasite à 30° dans une solution peptonée de glucose, saccharose, maltose ou dextrine ; au bout de douze jours environ, la culture devient toxique. Inoculée à l'animal

(lapin, chien, cobaye, souris), elle provoque des convulsions, des paralysies, des troubles tétaniformes, pouvant se terminer par la mort. Le chien est très sensible, bien qu'il ne soit pas réceptif à l'action des spores; le pigeon, si réceptif au contraire à l'action des spores, est réfractaire à la toxine.

Widal, Abrami, Joltrain et Brissaud ont démontré l'absence d'agglutination et de coagglutination avec le sérum de malades atteints de sporotrichose, actinomycose et muguet. De même la réaction de fixation est négative.

HABITAT. — MODE D'INFECTION CHEZ L'HOMME.

Aspergillus fumigatus est très répandu dans la nature sous forme de spores. Ces dernières siègent « dans l'air, sur les arbres, dans les couches les plus superficielles du sol » (Rénon). Rénon les a trouvées encore au niveau de graines provenant de divers pays. D'autre part, il a pu les déceler dans la salive, le mucus nasal de sujets sains.

L'aspergillose sévit spontanément chez les *pigeons*; la lésion initiale est constituée par un véritable chancre buccal.

Ce fait aide à comprendre comment, dans la profession de *gaveur de pigeons*, l'homme peut s'infecter directement. Il peut se contaminer encore par inhalation de poussières véhiculant les spores du parasite : les *peigneurs de cheveux* utilisent en effet, pour dégraisser les cheveux, de la farine de seigle, qui peut contenir des spores pathogènes. L'aspergillose peut s'observer aussi chez des meuniers, des grainetiers, etc.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

Aspergillus fumigatus, inoculé à l'animal, est très pathogène pour le pigeon, le lapin, le cobaye; il l'est moins pour le singe; le chat et le chien semblent réfractaires. L'animal de choix est le *pigeon*.

En injection intraveineuse, une culture de 2 à 3 centimètres cubes en liquide de Raulin tue les pigeons en deux à trois jours. Avec une dose plus faible, la marche de l'infection est plus lente, et l'animal ne succombe qu'en une quinzaine de jours.

L'autopsie montre l'existence de tubercules disséminés dans tous les viscères, dans le foie, principalement. Ces tubercules présentent le même aspect macroscopique et histologique que dans la tuberculose; on y décèle des granulations miliaires, des tubercules caséeux,

fibreux, etc., mais tous sont envahis par l'*Aspergillus*, sous forme d'un feutrage épais de filaments mycéliens et de spores.

Quand la mort a été rapide, on ne trouve de tubercules que dans le foie; les autres viscères sont seulement congestionnés.

Chez le *lapin*, l'inoculation intraveineuse provoque une pseudo-tuberculose généralisée de tous les viscères, mais surtout du rein. L'animal succombe en quatre à huit jours.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE.

Le diagnostic ne peut être assuré que par l'examen bactériologique. Chez l'homme, il doit porter sur les crachats.

Examen microscopique. — Prélever une parcelle de crachat dans ses parties verdâtres. En faire des frottis sur lame, laisser sécher, fixer. Colorer par la thionine phéniquée, ou, pendant dix à douze minutes, par la safranine, qui donne aux spores et aux filaments mycéliens une teinte orangée.

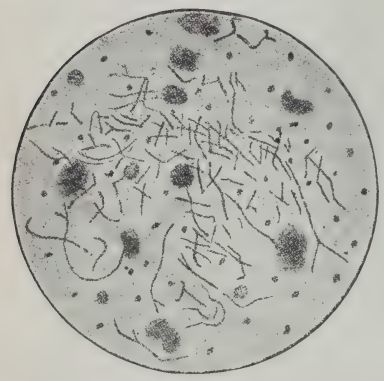


Fig. 296. — Mycélium aspergillaire dans les crachats d'un peigneur de cheveux (d'après Rénon).

On peut encore employer la méthode de Gram.

Cultures. — Les cultures sont indispensables pour ne pas confondre le parasite avec les filaments mycéliens d'*Actinomyces bovis*.

Dans les tubes ou les flacons d'Erlenmeyer contenant le liquide de Raulin, on ensemence une parcelle du crachat, prélevée dans la profondeur pour éviter les souillures de l'air. Après un séjour de quarante-huit heures à l'étuve à 37°, la surface du milieu montre une culture abondante d'*Aspergillus fumigatus*, sous forme d'un tapis velouté blanchâtre qui, vingt heures après, se couvre de spores verdâtres, devenant noires ultérieurement.

Inoculation. — L'inoculation est utile pour se rendre compte du pouvoir pathogène du champignon. On inoculera dans la veine d'un lapin une émulsion de spores provenant de la culture. A l'autopsie, prélever un fragment de rein, l'ensemencer : il donnera une culture caractéristique.

CHAPITRE LXII

AUTRES OOSPOROSES

A côté des oosporoses précédentes, il est d'autres variétés encore mal définies que, à l'heure actuelle, il est impossible de classer. Ces observations et des travaux ultérieurs le permettront peut-être.

Il existe, en effet, un certain nombre d'affections sévissant chez l'homme et l'animal dans lesquelles les examens bactériologiques ont décelé des champignons divers du genre *Oospora*.

Oosporoses humaines. — Ces affections, suivant leurs localisations, ont reçu des dénominations différentes.

Dans l'*oosporose oculaire*, qui provoque du larmoiement, de la conjonctivite, le canal lacrymal est obstrué par une petite masse résistante; la pression fait sourdre une gouttelette purulente, où l'on décèle le *Streptothrix Fœrsteri* (Cohn). En d'autres cas (Nedden), on observe une dacryocystite suppurée, ou une kératite parenchymateuse, ou de la conjonctivite avec ulcération de la caroncule lacrymale. Dans le cas de du Bois Séverin, *Oospora aurea* était en cause. Dans un autre, c'était *Oospora luteola*.

Dans l'*oosporose buccale*, on observe des plaques blanches, crémeuses, analogues à celles du muguet, des suppurations et surtout des abcès amygdaliens. Dans l'affection nommée langue noire pileuse, Guéguen, Thaon ont décrit *Oospora lingualis*, à laquelle on est tenté d'attribuer le pouvoir pathogène.

Dans des abcès amygdaliens et les plaques crémeuses, Roger, Bory et Sartory ont isolé, à l'état de pureté, *Oospora buccalis*. De même dans le cas de Rénon et Monier-Vinard.

Langer a fait connaître une *oosporose œsophagienne*.

L'*oosporose pulmonaire* a été étudiée par de nombreux auteurs ; au point de vue clinique, elle simule la tuberculose pulmonaire, témoin l'observation de Roger, Bory et Sartory, produite par l'*Oospora pulmonalis*. D'autres ont isolé, en des atteintes semblables, *Oospora japonica* ou bien *Oospora asteroïdes*.

Sous le nom d'*oosporoses suppuratives*, on groupe des suppurations habituellement étendues, siégeant sous la peau ou se locali-

sant au cerveau et diffusant vers les méninges (Almquist, Eppinger). Les champignons étudiés se rapprochent d'*Oospora asteroïdes*, dont la description est due à Eppinger (p. 804).

Oospores animales. — Diverses oosporoses sévissent chez les invertébrés, les reptiles, les mammifères, mais plus particulièrement chez les herbivores : *Oospora destructor* chez le hanneton du blé, *Oospora lacertæ* chez le lézard (Terni).

Chez le bœuf, Luginger a décrit une *Oospora* dans deux cas d'endocardite. Chez le cheval, Dean, dans deux abcès de la mâchoire, Vallée dans un cas de pasteurellose en ont décrit d'autres variétés.

Les « Oospora » dans le milieu extérieur. — De nombreuses recherches ont établi que les *Oospora* sont très répandus dans la nature. L'eau, le sol et l'air les véhiculent en grand nombre, et, parmi elles, plusieurs sont pathogènes pour l'homme et l'animal.

Ces parasites siègent encore sur les feuilles mortes, dans les débris végétaux en général, les fruits en putréfaction. Sur certains végétaux (légumineuses, fraisiers, etc.) même, ils provoquent des lésions nodulaires.

On les trouve sur certaines avoines, même saines (Brocq-Rousseau), et sur les graminées en général : blé, chanvre (Bellisari).

On conçoit ainsi comment ces champignons, qui souillent les téguments et les muqueuses, peuvent infecter l'homme ou l'animal, et pénétrer même dans le tube digestif. La fréquence des oosporoses chez les herbivores s'explique donc naturellement.

Diagnostic bactériologique. — ***Examen microscopique.*** — Le diagnostic peut être effectué tout d'abord à l'aide du microscope. Celui-ci montre dans le produit examiné (des grains blancs en général) des filaments mycéliens ramifiés, dont la nature ne pourra être établie que grâce à la culture en gouttes pendantes (Roger). On voit ainsi naître des ramifications latérales; puis les filaments se terminent par des renflements en massue; certains se segmentent pour prendre une forme bacillaire; d'autres donnent naissance à des arthrospores. Enfin les coccidies apparaissent à l'extrémité d'un filament, sous formes de chaînettes plus ou moins longues.

Les caractères des cultures sont différents suivant la variété d'*Oospora*. Les unes poussent sur gélose, d'autres seulement en bouillon maltosé.

Réaction de fixation. — Dans les cas douteux, il semble qu'on pourrait utiliser la réaction de fixation (Garnier et Bory) en mettant en présence du sérum du malade de l'antigène constitué par une minime quantité ($0^{cc},03$) de culture d'*Oospora* en bouillon maltosé.

CHAPITRE LXIII

CHAMPIGNONS PARASITES DE LA PEAU ET DU SYSTÈME PILEUX

Les champignons parasites de la peau et du système pileux peuvent être classés en trois groupes:

1° Les parasites des teignes;

2° Les parasites du *Pityriasis versicolor* et de l'érythrasma;

3° Les parasites des dermatoses spéciales aux pays chauds.

Le premier groupe est de beaucoup le plus important.

I. — CHAMPIGNONS PARASITES DES TEIGNES.

L'étude bactériologique des teignes a été faite surtout par Sabouraud, Bodin, Matruchot et Dassonville, etc. Nous suivrons ici les indications données par Sabouraud.

Les champignons parasites des teignes provoquent diverses lésions, entre autres:

Les teignes tondantes trichophytiques (*Trichophytons*);

La teigne tondante à petites spores (*Microsporons*);

Le favus (*Achorions*).

Technique générale.

La technique d'examen est la même pour ces divers champignons.

Prélèvements. — On épile les cheveux ou poils suspects avec une pince fine; on prélève les squames épidermiques par un léger grattage.

Examen direct. — Les poils ou squames sont portés sur une lame; on dépose à côté une goutte de solution aqueuse de potasse à 30 p. 100; couvrir d'une lamelle. On chauffe enfin au-dessus d'une flamme douce, jusqu'à ce que se dégage la première bulle d'ébullition; retirer immédiatement et laisser refroidir.

La potasse dissout les graisses cutanées et attaque plus ou moins les éléments anatomiques, tout en respectant les parasites. Avec la technique précédente, l'attaque est faible; on se rend compte surtout de l'aspect

général du parasite et de ses rapports avec le poil ou les cellules. Il est souvent utile de préparer d'autres lames, en chauffant un peu plus, de manière à dissocier les tissus ; on se rend mieux compte alors de la structure du parasite. — On peut substituer à la potasse, l'acide formique.

En pratique courante, la coloration n'a aucun avantage. Les préparations faites comme il vient d'être dit seront examinées à sec, successivement avec un objectif faible et un objectif fort.

Les préparations peuvent être conservées ; après le traitement précédent, laver à l'eau, monter à la glycérine.

Coloration. — La coloration, presque toujours inutile, n'a qu'une indication : elle fait apparaître plus nettement la structure cellulaire des mycéliums. Dans tous les autres cas, l'examen sans coloration est préférable.

Pour colorer : traiter d'abord par le chloroforme (pour dégraisser) ; chauffer deux à trois minutes dans l'acide formique ; colorer une minute au bleu de Sahli :

Eau distillée	40
Bleu de méthylène, solution aqueuse saturée	24
Borax, solution à 5 p. 100	16

Laver, passer à l'alcool et au xylol, monter au baume (Sabouraud).

Ensemencements. — Pour l'herpès circiné : prélever le pus des pustules ou la sérosité des vésicules ; ensemencer comme d'ordinaire.

Pour les teignes : épiler un cheveu ; couper la racine, la fragmenter en quatre ou cinq morceaux ; ensemencer chacun d'eux, à l'aide du fil de platine mouillé au préalable (on mouille en touchant la surface du milieu de culture), sur un même tube de culture, à 1 centimètre l'un de l'autre (procédé de Sabouraud).

Pour le sycosis : ensemencer le pus ou le poil, suivant les cas.

Pour le favus : ensemencer une partie profonde du godet.

Cultures. — Outre les milieux de culture habituels, spécialement la pomme de terre, il est bon d'employer les suivants (Sabouraud) :

I. —	Eau	1 000
	Maltose brute de Chanut	40
	Peptone granulée Chassaing	10
	Gélose	18
II. —	Comme I, en remplaçant la maltose par :	
	Glucose massée de Chanut	40
III. —	Eau distillée	100
	Peptone granulée Chassaing	3
	Gélose	1,8

a. *Milieux d'identification.* — Les milieux I et II sont destinés à l'identification des espèces. Il est en effet démontré que ces milieux sont généralement les plus aptes à faire apparaître leurs caractères différentiels.

b. *Pléomorphisme banal des cultures. Milieu de conservation.* — On a constaté que, cultivées longtemps sur milieux sucrés, la plupart des espèces finissent par donner un aspect cultural à peu près identique, sous forme d'un duvet blanc, très différent de la culture originelle ; repiqué sur mi-

lieu neuf, le duvet blanc donne naissance à un duvet blanc, et non à la culture type. Pour éviter cette transformation fâcheuse, qui donne à toutes les cultures un même aspect banal, Sabouraud recommande de conserver les semences sur milieu non sucré (milieu III).

Observations. — Les cultures des divers champignons parasites s'opèrent généralement au mieux à la température ambiante (vers 15° à 20°). Elles demandent d'ordinaire quelques jours ou quelques semaines avant d'atteindre leur plein développement. Elles se montrent souvent luxuriantes, très larges. On cultivera de préférence en flacons d'Erlenmeyer, non capuchonnés.

Signification du mot « spores ». — On sait que les champignons inférieurs, en cultures, sont formés essentiellement de deux parties : l'appareil végétatif, représenté par le mycélium ; l'appareil reproducteur, représenté par les spores. Dans leur vie parasitaire, ces mêmes champignons n'ont pas de spores vraies : ils sont exclusivement constitués par leur mycélium. Le mycélium est un long filament formé de cellules, qui, allongées dans les cultures, se tassent dans la vie parasitaire et prennent alors une forme cuboïde ou sphérique ; c'est à de telles cellules ramassées sur elles-mêmes que l'usage a assigné le nom de spores, et c'est dans ce sens que le mot devra être compris au cours des descriptions suivantes.

A. — Trichophytons.

Les Trichophytons sont les parasites des teignes tondantes trichophytiques, de l'herpès circiné trichophytique, de certains sycosis et de quelques onychomycoses.

Évolution générale de l'infection trichophytique. — Les Trichophytons se développent d'abord dans le tégument cutané. Ils abordent ensuite le follicule pileux et s'y développent plus ou moins ; ils pénètrent enfin le poil par sa face externe et se multiplient dans le poil.

De cette description générale, il résulte que tout Trichophyton est, à un moment donné, extérieur par rapport au poil.

Classification des Trichophytons. — Dans la suite de l'évolution, la plupart des Trichophytons se développent exclusivement à l'intérieur du poil ; la lésion extrapilaire du début passe presque toujours inaperçue, car elle est très fugace ; ce sont les *Trichophytons endothrix*.

D'autres se développent également presque exclusivement à l'intérieur du poil, mais la phase extrapilaire initiale est à la fois plus persistante et plus développée ; la plupart des poils ne présentent de parasites qu'à l'intérieur, mais quelques-uns en présentent à la fois à l'intérieur et à l'extérieur ; ce sont les *Trichophytons néo-endothrix*.

D'autres enfin se développent à la fois à l'intérieur et à l'extérieur du poil : ce sont les *Trichophytons ectothrix* (ou *endo-ectothrix*).

Les *Trichophytons ectothrix* comprennent deux groupements différenciés d'après la grosseur des spores : *Trichophytons ectothrix microïdes* (à petites spores), *Trichophytons ectothrix mégaspores* (à grosses spores).

Nous avons donc à étudier successivement :

Les *Trichophytons endothrix* ;
Les *Trichophytons néo-endothrix* ;
Les *Trichophytons ectothrix microïdes* ;
Les *Trichophytons ectothrix mégaspores*.

Caractères microscopiques généraux des Trichophytons. — Les caractères microscopiques des Trichophytons sont accusés au maximum dans le poil ; au contraire, dans la peau ou dans le pus, ces caractères sont beaucoup moins nets.

Étudiés *dans le poil*, tous les Trichophytons :

a. Sont représentés par des cellules mycéliennes (appelées spores ; voy. ci-dessus), sphéroïdes ou cuboïdes, avec double contour très apparent ;

b. Les spores se réunissent bout à bout, en files, constituant les filaments mycéliens. Ces filaments ont l'aspect de chaînes ;

c. Les chaînes de spores sont parallèles (ou presque) à l'axe du poil ;

d. Elles sont d'épaisseur égale sur toute leur longueur ;

e. Elles sont rectilignes, ou presque ;

f. Les filaments se divisent rarement, et exclusivement par dichotomie.

Etudes des diverses espèces de Trichophytons. — Nous étudierons successivement les quatre groupes édifiés dans la classification ci-dessus.

1° **Trichophytons endothrix.** — Caractères microscopiques. — On peut examiner des cheveux ou des poils.

Les *cheveux* malades (fig. 297) présentent le parasite exclusivement dans leur intérieur (pas du tout à l'extérieur). Les spores mesurent 5 à 7 μ ; elles sont égales entre elles, presque toujours extrêmement nombreuses, et remplissent le cheveu complètement ou à peu près (Voy. en outre ci-dessus, *Caractères microscopiques généraux*).

Dans les *squames* épidermiques (fig. 298), on trouve presque toujours des filaments mycéliens à peu près rectilignes ; ces filaments présentent des divisions fréquentes, toujours par dichotomie, dessinant une sorte de réseau ; ils sont formés de cellules (spores) à peu près cubiques. Exceptionnellement (*Tr. violaceum*), les cellules sont très allongées, et les filaments sont plus ou moins incurvés.

Cultures. — Variables suivant les espèces. Les espèces les plus répandues (à Paris) sont le *Trichophyton cratériforme* et le *Trichophyton acuminé*.

Trichophyton cratériforme. — Sur milieu I (p. 830), d'abord duvet blanc, puis formation d'un gâteau jaunâtre, poudreux, fortement redressé sur les bords (forme de cratère), avec mamelon au centre.

Trichophyton acuminatum. — Sur milieu I, d'abord simple bouton, puis formation d'un cône aplati très saillant, présentant de profonds sillons radiés.

Trichophyton violaceum. — Les premières cultures sur milieu I sont violettes, rondes, discoïdes, avec des sillons radiés. Les cultures ultérieures sont moins chromogènes.

Trichophyton effractum. — Culture d'abord analogue à celle du Trichophyton cratériforme, puis le centre se fend ; aspect de bague irrégulière.

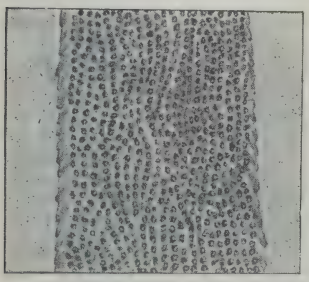


Fig. 297. — Poil parasité par un *Trichophyton endothrix*. Imité de Sabouraud.

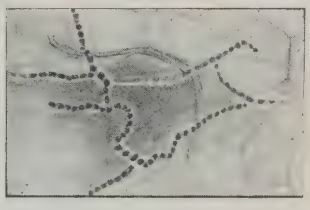


Fig. 298. — *Trichophyton* dans les squames épidermiques. Imité de Sabouraud.

Trichophyton polygonum. — Culture semblable à celle du Trichophyton cratériforme, mais le contour devient rapidement polygonal.

Trichophyton exsiccatum. — Culture analogue à celle du Trichophyton cratériforme ; mais le bord du cratère est fendillé et sec.

2° **Trichophytons néo-endothrix**. — La plupart des cheveux malades présentent exactement l'aspect des cheveux infectés par les *Trichophytons endothrix*. Quelques cheveux montrent en outre un nombre variable de filaments mycéliens à leur surface externe.

L'espèce la plus importante est *Trichophyton cérébriforme* : sur milieu I, culture arrondie, blanc-crème, à surface chagrinée, cérébriforme.

3° **Trichophytons ectothrix microïdes**. — Examen microscopique. — Les deux caractéristiques du groupe sont : la présence du parasite dans le poil et en dehors du poil ; le polymorphisme des éléments.

Le cheveu malade présente :

A l'extérieur, une véritable gaine de spores petites (3 à 4 μ), les unes égrenées, d'autres en chaînes;

A l'intérieur, des éléments polymorphes: filaments longs, droits ou sinueux; chaînes de spores, de dimensions variables.

Cet aspect rappelle un peu celui des Microsporons; on basera le diagnostic sur le polymorphisme du parasite intrapilaire et sur la constatation de chaînes de spores, car les Microsporons ne figurent pas de chaînes.

Cultures. — Au point de vue cultural, il existe deux groupes : les *Gypséums*, à culture plâtreuse ou poudreuse ; les *Nivéums*, formant un duvet neigeux.

Gypséums. — L'espèce la plus importante est *Trichophyton asteroïdes*. Sur milieu II, saillie centrale, blanche, d'où partent des rayons longs et déliés. Surface poudreuse.

Nivéums. — L'espèce la plus importante est *Trichophyton radians*. Sur milieu I, large disque central, émettant de courts rayons; aspect de duvet neigeux.

4° **Trichophytons ectothrix mégaspores.** — Examen microscopique. — Le poil malade présente des spores à l'extérieur et des

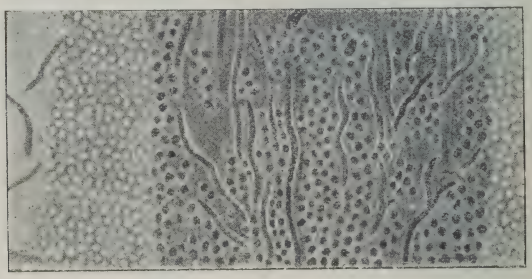


Fig. 299. — Poil parasité par un *Trichophyton ectothrix mégaspore*. Imité de Sabouraud.

filaments mycéliens à l'intérieur. Les spores mesurent 5 à 8 μ; elles sont tantôt en chaîne, tantôt agglomérées en masses indistinctes (fig. 299).

Dans les squames, la disposition rappelle *Trichophyton endothrix*.

Cultures. — Au point de vue cultural, les *Trichophytons ectothrix* présentent des cultures duveteuses ou des cultures faviformes (analogues à celles de l'Achorion du favus).

Trichophytons à culture duveteuse. — *Trichophyton rosaceum.* — Sur milieu I, culture arrondie, saillante, duveteuse ; blanche, puis rose pâle à la surface ; violette à sa face profonde; divisée par des sillons radiés.

Trichophyton equinum. — Culture duveteuse blanche sur milieu I ; traînée jaune d'ocre sur pomme de terre.

Trichophyton ectothrix faviforme. — *Trichophyton ochraceum.* — Culture sous forme de saillies acuminées, de couleur jaune d'ocre.

Inoculations. — Presque toutes les espèces citées ci dessus sont facilement inoculables au cobaye (lésions des poils).

Siège; **fréquence**; **répartition géographique**. — Les divers Trichophytons peuvent provoquer des lésions du cuir chevelu (teigne tondante), de la barbe, de la peau (herpès circiné), des ongles.

Les *Trichophytons endothrix* attaquent presque exclusivement le *cuir chevelu* : les *Trichophytons néo-endothrix*, la *barbe* et, moins, le *cuir chevelu*: les *Trichophytons ectothrix microïdes*, la *peau* et, moins, le *cuir chevelu* ; les *Trichophytons ectothrix megaspores*, la *barbe* et la *peau*.

D'après les statistiques de Sabouraud, les Trichophytons les plus fréquents en France, sont *Trichophyton cratériforme*, puis *Trichophyton acuminatum*. puis *Trichophyton violaceum* ; moins fréquemment rencontrés sont *Trichophyton asteroïdes*, *Trichophyton cérébriforme* ; moins encore, *Trichophyton effractum*, *Trichophyton ochraceum*, *Trichophyton rosaceum* ; les autres sont exceptionnels.

Mais la répartition est inégale suivant les pays. Les *Trichophytons exsiccatum* et *polygonum*, d'Argentine, sont inconnus en France; le *Trichophyton violaceum* est prédominant en Italie et en Argentine, etc.

Trichophytons chez les animaux. — Nous avons eu surtout en vue des espèces rencontrées chez l'homme, Mais beaucoup d'entre elles s'attaquent également à l'animal : ainsi *Trichophyton equinum* et les *Trichophytons microïdes* au cheval; le *Trichophyton ectothrix faviforme* au veau.

Épidermophytose inguinale. — C'est le parasite de l'*eczéma marginatum.* Il attaque exclusivement la peau, jamais les poils.

Dans les squames, on trouve des figures semblables à *T. endothrix.*

Sur milieu I, culture ronde avec protubérance excentrique, sillons radiés, poudreuse; couleur jaune verdâtre.

B. — Microsporons.

Le type le plus important du groupe est *Microsporon Audouini*, parasite habituel de la teigne tondante microscopique de l'enfant, et tout à fait rare par contre en dehors du cuir chevelu. Il existe chez l'homme d'autres espèces moins répandues ; parmi les moins rares d'entre elles, le *Microsporum tardum* présente la même localisation que *Microsporon Audouini*. Ce premier groupe forme les *Microsporons du type humain* ; leur culture est peu abondante.

D'autres Microsporons sont *du type animal*, c'est-à-dire qu'ils infectent ordinairement l'animal, mais ils peuvent aussi provoquer des lésions chez l'homme : non seulement la teigne tondante, mais encore le sycosis et l'herpès circiné. Nous citerons *Microsporon equinum* (cheval), *Microsporon lanosum* (chien).

Tous les *Microsporons* présentent sensiblement les mêmes caractères microscopiques, dans les tissus malades ; ils diffèrent entre eux par leurs caractères de cultures.

Caractères microscopiques généraux des Microsporons. — 1° Les *poils malades* présentent une *gaine extérieure de*

spores mycéliennes, très visibles, et des *filaments intérieurs*, peu visibles.

a. Dans la partie intrafolliculaire du cheveu (fig. 300), la gaine de spores forme un manchon continu, recouvrant le cheveu sur toute sa surface. Les spores mycéliennes, petites, 2 à 3 μ, ovalaires ou arrondies, égales entre elles, sont disposées en mosaïque, sans ordre (pas de chaînes); à un fort grossissement, chaque spore présente une sorte de *noyau central* avec périphérie plus claire, mais sans double contour. Les spores ne pénètrent pas dans l'intérieur du poil. La gaine de spores s'arrête au-dessus du bulbe pileux.

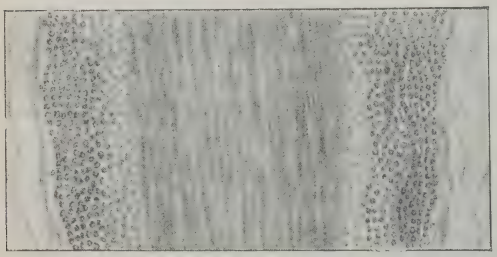


Fig. 300. — Cheveu parasité par *Microsporon Audouini*. Imité de Sabouraud.

Dans sa partie aérienne, le poil n'est plus protégé contre les traumatismes, et la gaine se dissocie; elle est alors incomplète, et les lambeaux qui en restent ne couvrent que partiellement le cheveu, donnant l'aspect d'une écorce de chêne (Devergie).

b. A l'intérieur du cheveu, il existe un mycélium, visible surtout après action énergique de la potasse à 30 p. 100 et léger écrasement de la préparation; on voit alors des filaments, dirigés suivant l'axe du poil, onduleux, petits et ne présentant que de rares divisions transversales; ces filaments sont d'autant plus nombreux qu'on se rapproche davantage du bulbe pilaire. Ils descendent plus bas que la gaine de spores, mais s'arrêtent au-dessus du bulbe; le mycélium, visible au-dessous de la gaine de spores, constitue la frange d'Adamson.

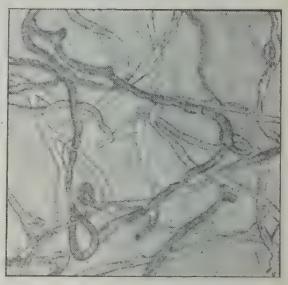


Fig. 301. — *Microsporon* dans les squames épidermiques. Imité de Sabouraud.

2° *Dans les squames* (fig. 301), les Microsporons se présentent sous forme de filaments fins, 1 à 3 μ, sinueux, portant sur le côté des excroissances en bourgeons, et ne montrant que de très rares cloison-

nements transversaux sur préparations non colorées (ces cloisonnements sont beaucoup plus nombreux après coloration).

Cultures. — *Microsporon Audouini.* — Sur milieu I ou II, culture arrondie, en duvet d'abord blanc pur, puis blanc grisâtre ; trois ou quatre sillons radiés. En un mois, 5 centimètres de diamètre.

Microsporon tardum (Sabouraud) — Comme le précédent, mais cultures de moitié plus petites.

Microsporon du chien (Bodin-Almy) ou *lanosum.* — Sur milieu I, culture arrondie ; centre glabre, anneau de duvet laineux saillant, blanc. En un mois, 9 centimètres de diamètre.

Microsporon equinum (Bodin). — Sur milieu I, duvet très court ; colonies rondes, avec sillons radiés ; centre chagriné.

Microsporon fulvum (Uriburu, à Buenos-Ayres). — Sur milieu I, colonies à centre brunâtre, avec anneau de duvet blanc. Sur pomme de terre, duvet brun ocreux.

Inoculations. — Les Microsporons animaux sont facilement inoculables aux animaux. L'inoculation des Microsporons humains est plus aléatoire.

C. — Achorions.

Les *Achorions* sont les parasites du *favus*, dont la forme habituelle est la teigne faveuse du cuir chevelu.

On sait que le favus est essentiellement caractérisé par la production du *godet favique*, développé autour d'un cheveu favique. Les Achorions peuvent produire, en outre, de l'onychomycose, ou des lésions herpétiformes de la peau.

L'espèce à peu près exclusivement rencontrée chez l'homme est *Achorion Schœnleini*. L'*Achorion Quinckeanum* (Bodin), parasite habituel de la souris, est exceptionnel chez l'homme. L'*Achorion gallinæ* est spécial aux poules.

Les caractères microscopiques dans les tissus sont les mêmes pour toutes les espèces.

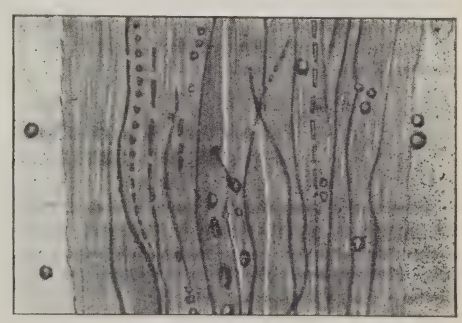


Fig. 302. — Poil parasité par *Achorion Schœnleini.* Imité de Sabouraud.

Caractères microscopiques généraux des Achorions. — 1° Dans le *godet favique*, l'examen montre une quantité considérable de parasites, de formes variées : filaments de cellules mycéliennes peu allongées, cellules

mycéliennes isolées ou tassées les unes contre les autres. Les filaments sont surtout abondants à la partie moyenne du godet.

2° Le *cheveu favique* (fig. 302) ne présente de parasites que dans son intérieur; il n'en existe pas à la face externe. Les parasites sont représentés par des filaments mycéliens. Ces filaments:

a. Sont toujours assez peu nombreux, on peut les compter;

b. Se dirigent parallèlement à l'axe du cheveu;

c. Sont plus ou moins sinueux;

d. Offrent une épaisseur variable, 3 à 8 μ et plus;

e. Sont divisés par des cloisons généralement très distantes les unes des autres, parfois très rapprochées (aspect de chaîne de spores), un même cheveu présentant d'ordinaire ces divers aspects.

Dans les lésions jeunes, on voit parfois des cellules mycéliennes cuboïdes s'agglomérer en petits amas, d'où partent les filaments intrapilaires; cet aspect, désigné *tarse favique*, représente la phase initiale de pénétration du parasite dans le poil, et non une division des filaments en trois ou quatre branches, comme on l'avait cru tout d'abord.

Les cheveux faviques présentent en outre des bulles d'air (loges blanc d'argent).

Cultures. — *Achorion Schœnleini*. — Sur milieux I, II ou III, culture blanc jaunâtre, à surface bosselée, prenant l'aspect d'une éponge. Pas de duvet.

Achorion Quinckeanum. — Sur milieu III, culture assez analogue à la précédente. Sur milieux I ou II, culture en disque saillant, blanche, duveteuse.

Achorion gallinæ (Mégnin-Sabrazès). — Culture analogue à celle de *Trichophyton rosaceum*, dont elle diffère surtout parce que le pigment rose colore le milieu et qu'il n'existe pas de pigment violet.

Inoculations. — On peut inoculer le favus au cobaye en partant de lésions faviques; plus difficilement en partant de cultures. L'*Achorion Quinckeanum* et l'*Achorion gallinæ* sont facilement inoculables, l'un à la souris, l'autre à la poule.

II. — PARASITES DU « PITYRIASIS VERSICOLOR » ET DE L'ÉRYTHRASMA.

Microsporum furfur (parasite du **Pityriasis versicolor**). — Après le traitement habituel par la potasse, les squames du *Pityriasis versicolor* laissent voir un parasite extrêmement abondant (fig. 303). Ce parasite, *Microsporum furfur* ou *Malassezia furfur*, se présente sous deux formes toujours juxtaposées :

a. Des filaments mycéliens, d'épaisseur inégale, en moyenne 2 à 4 μ, formés de cellules tantôt allongées, tantôt presque sphériques;

b. Des paquets de spores. Les spores sont inégales, 2 à 5 μ, arrondies, disposées en paquets semés au hasard, sans relation apparente avec le mycélium.

Il n'est pas établi que les cultures annoncées par Kotliar soient bien celles du *Microsporum furfur*.

Microsporum minutissimum (parasite de l'**Érythrasma**). — Le *Microsporum minutissimum* (Burckhardt) a été décrit par Balzer et Besnier. Pour l'étudier, dégraisser les squames par l'éther, traiter par l'acide acétique, laisser sécher; laver à l'alcool, colorer au bleu de Unna, alcool, xylol; monter au baume.

Ainsi préparé, le parasite se présente sous des formes variées : filaments segmentés, parfois réunis en paquets; éléments isolés, ressemblant beaucoup à des bacilles; épaisseur variable, en moyenne 0 μ, 80. D'après ces quelques caractères, le parasite se rapproche des streptothricés.

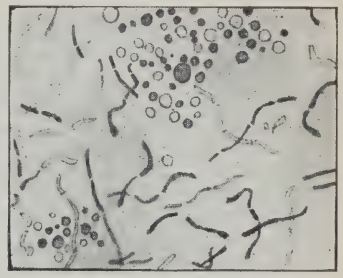


Fig. 303. — *Malassezia furfur* dans les squames du *Pityriasis versicolor*. Imité de Sabouraud.

III. — PARASITES DES DERMATOSES DES PAYS CHAUDS.

Parasite du tokelau. — Le *tokelau* ou *tinea imbricata*, est une dermatose des pays chauds (Indo-Chine, Océanie),

Dans les squames, on trouve des filaments mycéliens minces, 1 à 2 μ, ramifiés, incolores; certains d'entre eux se terminent par des renflements globuleux, brunâtres, donnant naissance à des stérigmates qui portent des conidies (ou vraies spores mycéliennes), de 2 à 13 μ, rondes, couvertes d'épines.

Ce parasite, appelé *Lepidophyton* par Tribondeau, paraît être un *Aspergillus* : *Aspergillus lepidophyton* (Wehmer).

Parasites des caratés. — Les caratés, spéciales à la Colombie, sont des mycoses épidermiques, accompagnées de pigmentations variées : blanc, rouge, violet et noir violacé.

Montoya y Flores décrit dans les squames des filaments longs et ramifiés par dichotomie; certains se continuent par un renflement triangulaire d'où naissent des stérigmates terminés par une file de trois à quinze spores. Morphologiquement, les parasites des caratés rappellent l'*Aspergillus* et le *Penicillium*.

Parasite de la pinta. — Dermatomycose du Mexique, avec squames rouges, blanches ou noires.

Dans les squames, nombreuses spores noirâtres, et filaments mycéliens courts terminés par une spore.

Parasite de la piedra. — La piedra, spéciale à la Colombie, est caractérisée par l'existence de petites nodosités dures (*piedra*, caillou) au long du cheveu.

Au microscope, ces nodosités se montrent exclusivement formées de spores en mosaïque, polygonales, très grosses, 12 à 15 μ, formant manchon en un point du cheveu.

CHAPITRE LXIV

SPIROCHÈTE DE LA SYPHILIS

Nombreuses ont été les recherches entreprises pour découvrir l'agent pathogène de la syphilis. On a décrit dans les lésions syphilitiques, dans le sang des sujets qui en étaient porteurs, de multiples germes auxquels le pouvoir spécifique a été attribué ; depuis une dizaine d'années, c'est du côté des protozoaires que les travaux s'orientèrent ; on accusa certains flagellés (Stassano), un hémoprotiste (Horand). Cette orientation nouvelle était déterminée par l'analogie que l'on voulait reconnaître entre la dourine du cheval, produite par un trypanosome, et la syphilis humaine.

En 1903, Romo (de Budapest) décrit des spirilles dans 9 cas de chancres syphilitiques, mais sans leur attribuer un rôle dans l'étiologie de la syphilis. En 1905, Siegel voit dans le sang des syphilitiques un protozoaire qu'il nomme *Cytorrhyctes luis* et qu'il croit être l'agent spécifique. Ce protozoaire existait aussi dans le sang de lapins, cobayes, auxquels il pensait avoir inoculé la syphilis. Schaudinn, la même année, en voulant contrôler les constatations de Siegel, découvre avec Hoffmann un Spirochète qu'il nomme *Spirochæta pallida* ; plus tard il lui donna le nom de *Treponema pallidum*, adopté aujourd'hui par tous les auteurs. Ce germe spécial est bien doué de spécificité, car il se trouve presque constamment dans les lésions syphilitiques, et rien que chez elles ; enfin c'est encore lui que l'on découvre dans la syphilis expérimentale du singe, comme l'ont démontré Roux et Metchnikoff.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — *Examiné à l'état frais, à l'ultramicroscope*, le Tréponème de la syphilis est un fin filament spiralé, d'apparence brillante sur le fond noir de la préparation (fig. 304). Il est doué d'une grande mobilité, qui se manifeste suivant plusieurs modes : ou bien il tourne autour de son axe longitudinal, en avançant ou reculant par saccades, en ligne droite ; ou bien, restant en place, il présente des mouvements d'ondulation, de reptation ; ou bien encore il effectue des mouvements de flexion et de torsion, auxquels participe tout le corps du parasite.

Après coloration, les détails morphologiques apparaissent mieux. Le Tréponème est long de 6 à 15 μ sur 0μ,25 de large. Les ondulations, au nombre de 6 à 12 en général, sont régulières, surtout dans

la partie médiane du corps. Les extrémités sont effilées, se continuent par un filament, sorte de cil long comme environ la moitié du parasite, s'enroulant parfois en boucle.

La section du Tréponème est circulaire; il n'est pas pourvu de membrane ondulante.

Plusieurs Tréponèmes sont parfois accolés bout à bout et figurent ainsi des formes longues qui sont, en réalité, constituées par plusieurs éléments. En certains cas, deux éléments placés bout à bout s'écartent suivant un angle plus ou moins aigu et figurent un V, un Y (fig. 305); s'ils se rejoignent par les deux extrémités, ils forment un O.

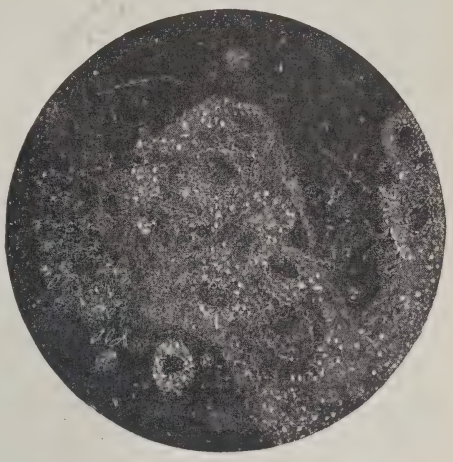


Fig. 304. — *Treponema pallidum* vu à l'ultramicroscope dans le produit de raclage d'un chancre induré (Gastou).

Coloration. — *Treponema pallidum* est très difficile à colorer; il exige des colorants spéciaux, et encore ces derniers lui donnent-ils une teinte pâle. La coloration par la méthode de Gram reste négative.

Nous étudierons plus loin les principaux procédés destinés à le mettre en évidence, lors de la recherche du parasite dans les frottis et les coupes.

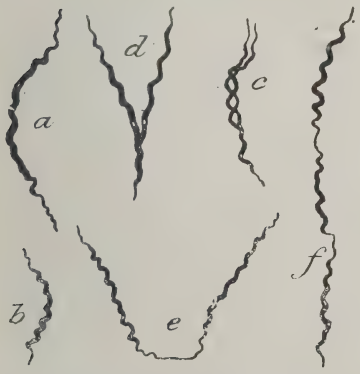


Fig. 305. — Divers aspects de *Treponema pallidum* (d'après Schaudinn).

CULTURES.

Pendant longtemps, les essais de culture du Tréponème syphilitique restèrent négatifs. Volpino et Fontana, immergeant dans du sang humain pur ou citraté, du sérum, de l'ascite, des fragments de tissus syphilitiques, remarquèrent que le liquide des tubes de culture était riche en microbes de souil-

lure, mais ne contenait pas de Tréponèmes ; par contre un développement important de ce dernier s'effectuait au sein même du tissu.

En 1907, Levaditi et Mac Intosh, qui avaient réussi à cultiver plusieurs Spirochètes (*Spirochetes refringens*, *Spirochetes gallinarum*) en sacs de collodion, tentèrent l'utilisation de ce procédé pour la culture du Tréponème. Ils introduisirent des sacs de collodion chargés de Spirochètes vivants dans la cavité péritonéale des singes. Ils obtinrent des cultures impures d'un Spirochète analogue à celui de la syphilis, mais non pathogène pour l'animal.

Depuis 1909, plusieurs auteurs réussirent la culture du *Treponema pallidum*, d'abord impure, puis pure.

Cultures impures de Schereschewky. — Schereschewky place au fond d'un tube contenant du sérum de cheval coagulé un fragment de tissu syphilitique. Après dix jours de séjour à l'étuve à 37°, le sérum commence à se troubler autour du fragment et le long de la piqûre, et se liquéfie. Les tubes dégagent une odeur d'hydrogène sulfuré. Le louche produit est formé en grande partie de *Treponema pallidum*. Cette culture, devenue liquide, réensemencée dans un nouveau tube de sérum, donne, au bout de dix jours, une nouvelle génération. Il fait ainsi plusieurs passages. Mais ces cultures restent *impures*, associées à des cocci et bâtonnets. Il est vrai que Sowade, puis Tomasczewski ont pu, par des artifices assez délicats, débarrasser les cultures de ces impuretés.

Cultures pures de Mühlens. — Mühlens prépare des tubes contenant 2 parties de gélose neutre et 1 partie de sérum de cheval inactivé. Une aiguille chargée de produits syphilitiques sert à l'ensemencement, en piqûre, de plusieurs tubes semblables : trois à sept jours après, on voit apparaître dans le tiers inférieur des tubes des colonies sous forme de petits points revêtant, quelques jours après, l'aspect de nuages floconneux arrondis, blanchâtres, dont le centre prend souvent une teinte brunâtre. Ces cultures doivent être effectuées en *anaérobiose*.

On a beaucoup discuté sur l'identité de ces Spirochètes cultivés, et on a admis difficilement leur nature syphilitique. En effet, ces cultures, mises en présence de sérum de syphilitique, n'étaient ni agglutinables, ni précipitables ; enfin elles ne fixaient pas le complément. Néanmoins, les caractères morphologiques étaient bien ceux du Tréponème ; de plus, fait important, Schereschewky constata que l'inoculation de ces cultures au singe et au lapin leur conférait l'immunité contre l'injection de produits syphilitiques. Enfin entre les mains de Bruckner et Galasesko, puis de Sowade, l'inoculation de ces cultures au lapin reproduisit chez lui une orchite, riche en Spirochètes. Mais, pour certains, cependant, plusieurs Spiro-

chètes étrangers au Tréponème peuvent déterminer cette orchite.

Cultures pures de Noguchi. — Noguchi obtient des cultures pures à l'aide d'un milieu constitué par 1 partie de sérum et 3 parties d'eau, additionné d'un assez gros fragment de rein ou de testicule frais de cobaye normal. 15 centimètres cubes de ce liquide sont versés dans un tube ; la surface est recouverte d'une couche d'huile de paraffine haute de 3 centimètres.

On ensemence avec des produits syphilitiques en *anaérobiose*. On porte à l'étuve à 37°, pendant deux semaines. Le milieu s'est troublé et contient, outre le Tréponème, d'autres microbes ; on les élimine en filtrant la culture sur bougie Berkefeld ; le Tréponème traverse le filtre, qui retient les germes étrangers.

Ces cultures pures reproduisent chez le lapin l'orchite typique ; de plus, elles fixent le complément. Les résultats de ces recherches furent confirmés par Hoffmann, puis Sowade. Ce dernier a même pu obtenir, par inoculation de cultures aux lapins, une syphilis constitutionnelle analogue à celle de l'homme : injectés par voie sanguine, les lapins présentèrent des syphilides papuleuses et papulo-ulcéreuses avec adénites et, dans un cas, de l'iritis spécifique.

SIÈGE ET TOPOGRAPHIE DU TRÉPONÈME.

Les nombreuses recherches qui ont été poursuivies depuis la découverte de Schaudinn ont contribué à faire connaître l'habitat du Tréponème dans l'organisme du syphilitique aux différentes phases de l'infection.

Syphilis acquise. — Le Tréponème de Schaudinn existe tout d'abord dans le *chancre pr mitif*, ainsi qu'il résulte des travaux initiaux de Schaudinn et Hoffmann, de Metchnikoff et Roux, etc. Il est abondant et siège, de préférence, dans les papilles voisines de l'ulcère, et dans les faisceaux conjonctifs sous-épidermiques. Il y provoque une réaction mononucléaire.

A la période du chancre, Schaudinn, Bertarelli et Volpino, Thibierge, etc., ont montré que le parasite siégeait encore dans les ganglions qui accompagnent son évolution.

Les *lésions de la période secondaire* sont encore envahies par le Tréponème ; les plaques muqueuses, les syphilides secondaires le recèlent d'une façon constante ; mais, dans ces altérations, surtout dans les coupes, il est plus difficile à mettre en évidence ; il s'y trouve en moins grande abondance. Dans les taches de roséole, Veillon et Girard l'ont décelé de préférence, dans les capillaires dilatés terminaux des papilles et dans quelques vaisseaux sous-

papillaires. On en rencontre quelques échantillons dans les nodules périvasculaires. Il existe encore dans le *sang* de la circulation générale, mais en minime quantité, si bien que nombre d'auteurs ont nié sa présence et, par conséquent, la virulence du sang à cette période. Néanmoins les inoculations positives au chimpanzé et des procédés de technique plus perfectionnés qu'au début de ces recherches permettent d'affirmer la présence du Spirochète dans ce liquide.

Dans les organes, on l'a rarement décelé.

Dans les *lésions tertiaires*, le Tréponème est assez peu abondant pour qu'en certains cas on ne puisse pas le mettre en évidence. Néanmoins les constatations directes et l'expérimentation ont permis de le déceler dans les gommes, les lésions papuleuses, etc., quelquefois, mais rarement, dans le sang ; on a pu le trouver dans des coupes d'aortite spécifique (Reuter).

Dans les gommes, il se rencontre uniquement dans les parois.

Enfin, le Tréponème pâle a été mis en évidence dans les coupes de *cerveau de paralytiques généraux* par Noguchi et Moore, découverte d'importance capitale qui a apporté la preuve indiscutable de la nature spirochétienne de la paralysie générale, et confirmant la conception d'Esmarck et Jessen et surtout de Fournier. Le résultat de ces recherches fut confirmé par Marinesco et Meinéa, puis Levaditi, Marie et Bankowski qui arrivèrent à déceler le parasite dans le cerveau de presque tous les paralytiques généraux morts en état d'ictus (8 fois sur 9). Les examens microscopiques montrent sa présence dans la substance grise corticale sous forme de foyers plus ou moins circonscrits.

En 1918, Valente le met en évidence, non plus sur le cadavre, mais sur le vivant au moyen de ponctions cérébrales après trépanation (70 p. 100 des cas).

Enfin en 1918, Levaditi et Danulesco, puis Volk et Pappenheim ont montré sa présence dans le sang et le liquide céphalo-rachidien de cette catégorie de malades, à la suite d'inoculations au lapin. Graves avait fait la même constatation sur le sang de deux *tabétiques*.

Hérédo-syphilis. — Le Tréponème existe en grand nombre dans les organes de nouveau-nés hérédo-syphilitiques ; l'examen des frottis, des coupes le décèle en grande abondance dans les organes. On a reconnu qu'il envahissait le foie (fig. 306), la rate, le poumon, les capsules surrénales. Il fourmille dans le liquide des bulles de pemphigus syphilitique ; on l'a retrouvé dans les parois gastriques, dans les parois de la vessie, de la vésicule biliaire, dans les troncs ner-

veux (Schimpert), le cerveau, l'exsudat méningé (Ravaut et Ponselle), l'ovaire et même les ovocystes. Il envahit la circulation beaucoup

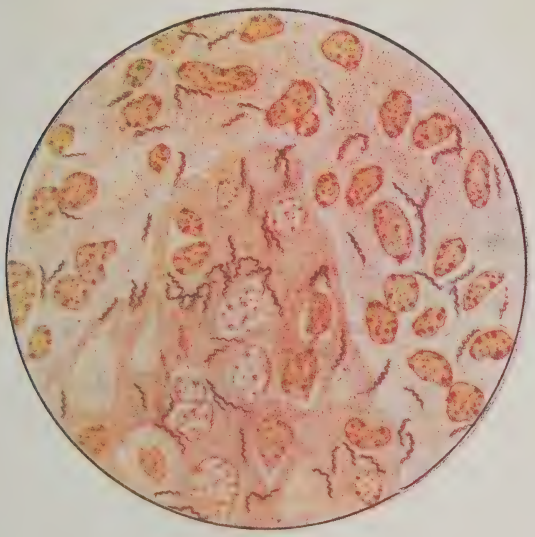


Fig. 306. — *Treponema pallidum* dans une coupe de foie d'enfant hérédo-syphilitique.

plus fréquemment que chez l'adulte ; enfin Levaditi et Sauvage ont montré que le placenta de la mère s'infiltre de Spirochètes quand l'enfant présente des lésions d'hérédo-syphilis.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

Klebs, Martineau et Hamonic, M. et Ch. Nicolle avaient déjà tenté l'inoculation de la syphilis au singe ; les résultats de leurs expériences s'étaient montrés si inconstants qu'ils n'entraînèrent pas la conviction. La question prit de l'importance le jour où, en 1903, Roux et Metchnikoff obtinrent régulièrement l'infection syphilitique expérimentale chez les singes anthropoïdes ; ces recherches furent le point de départ de multiples travaux sur ce sujet.

Syphilis expérimentale du chimpanzé. — Roux et Metchnikoff montrèrent que le chimpanzé était très sensible, aussi sensible que l'homme, à l'infection syphilitique.

L'inoculation de produits syphilitiques (chancre, lésions secondaires, sang, parois de certaines gommes) s'effectue au niveau des

téguments ou des muqueuses ; on opère, de préférence, au niveau du sourcil ou sur le sillon balano-préputial.

A l'aide d'un petit scarificateur, on gratte la surface d'une lésion syphilitique ; puis on pratique chez l'animal en expérience une série de petites incisions, que l'on recouvre du virus recueilli.

Lésion initiale. — Au point d'inoculation, on voit apparaître dans les quatre à cinq premiers jours une légère rougeur, qui disparaît totalement au bout d'une semaine. Puis, quinze à vingt jours après l'inoculation, se développe une zone congestive qui s'indure et revêt l'aspect d'une papule exulcérée, qui se recouvre d'une croûtelle. Ce véritable *chancre induré* s'accompagne d'une adénopathie, dont le volume augmente dans la suite et présente le caractère d'indolence connu en syphilis humaine. Ce chancre guérit spontanément au bout de quelques semaines.

Lésions de la période secondaire. — Environ un à deux mois après l'apparition du chancre, on note, dans un certain nombre de cas (66 p. 100 environ), le développement de plaques muqueuses, de papules, ressemblant aux syphilides humaines de la période secondaire.

A cette période, Roux et Metchnikoff ont même constaté des paraplégies transitoires.

Le chimpanzé vit trop peu sous nos climats pour qu'on ait pu observer des accidents tertiaires.

Les lésions provoquées chez le chimpanzé sont virulentes et inoculables à d'autres chimpanzés. Ce fait, ajouté à cet autre que le *Treponema pallidum* y est décelable, constitue la preuve la plus évidente de la nature syphilitique de ces altérations.

Syphilis expérimentale de l'orang-outang. — L'inoculation de virus syphilitique chez l'orang-outang détermine la production d'un chancre initial ; il est toutefois moins net que chez le chimpanzé ; d'autre part, on n'assiste jamais à l'évolution de la période secondaire.

Singes inférieurs. — Les singes inférieurs (macaques et cynocéphales) sont beaucoup moins sensibles à la syphilis expérimentale que le chimpanzé (50 p. 100 de résultats positifs, d'après Roux et Metchnikoff).

La proportion des succès varie beaucoup suivant la région que l'on soumet à l'inoculation. On s'adresse, de préférence, à l'arcade sourcilière ou aux muqueuses génitales.

Thibierge et Ravaut ont obtenu des résultats positifs constants en pratiquant les inoculations sur le bord libre de la paupière supérieure des macaques : après une incubation de vingt-trois jours en

moyenne, le bord libre de la paupière devient œdémateux; l'infiltration augmente les jours suivants et peut s'étendre à tout le bord libre, qui se transforme en un véritable bourrelet. En d'autres cas, l'œdème est plus limité, et, au point inoculé, se forme un nodule inflammatoire au niveau duquel la surface cutanée prend une teinte rouge foncé cuivré. La consistance est augmentée, mais on n'observe pas l'induration spéciale si caractéristique du chancre induré. L'étude des coupes de cette lésion montre une infiltration périvasculaire, analogue à celle du chancre humain. Néanmoins, on ne note ni ulcération, ni adénopathie, et les lésions de la période secondaire sont absentes.

En réalité, cette lésion ne saurait être superposable à la lésion syphilitique initiale de l'homme ou du chimpanzé. Elle est néanmoins spécifique, et Thibierge et Ravaut en ont tiré profit pour établir un diagnostic expérimental d'une lésion, dont la nature syphilitique peut seulement être suspectée.

Syphilis expérimentale chez le lapin. — Le virus syphilitique est inoculable au lapin par plusieurs voies.

Voie oculaire (Bertarelli). — On prélève un fragment de tissu syphilitique : paroi de chancre, papule, ou produit de grattage de ces lésions. L'inoculation peut s'effectuer de trois façons :

1° Après cocaïnisation de l'œil du lapin, une lancette pratique une petite kératotomie ; par la plaie produite, on introduit, à l'aide d'une spatule, dans la chambre antérieure, un fragment du tissu.

2° Les paupières étant écartées, on trace sur la cornée une série de scarifications parallèles ; à leur niveau, on frotte le fragment de tissu.

3° On peut encore broyer dans l'eau physiologique stérile la pulpe ou le fragment prélevé et l'injecter dans la chambre antérieure.

Quel que soit le mode d'inoculation, il se produit parfois, dans les premiers jours, une légère réaction oculaire banale, due aux germes associés; elle ne dure que quelques jours. Ce n'est qu'après deux à sept semaines que se montre la réaction spécifique. Celle-ci consiste dans l'apparition de *petites granulations*, ayant le volume d'une tête d'épingle, occupant le bord de l'iris, puis dans une opalescence diffuse de la cornée, symptomatique d'une *kératite parenchymateuse*. Milian et Roussel ont décrit plusieurs variétés de ces kératites syphilitiques chez le lapin : *kératite ponctuée*, *kératite chancriforme* simulant un chancre érosif; *kératite diffuse* pouvant devenir *ulcéreuse*.

L'examen des coupes de cette cornée ainsi atteinte montre l'existence de nombreux Tréponèmes, qui se trouvent en amas considérables à la limite des lésions d'infiltration.

Enfin, d'après Bertarelli, des fragments de cette cornée ainsi atteinte, inoculés de la même manière dans la chambre antérieure de lapins neufs, reproduisent les mêmes lésions; de plus, le virus de lapin ainsi traité est inoculable au singe.

Les expériences de Bertarelli furent confirmées par Scherber, Greet et Clausen, etc.

Voie génitale. — Uhlenhuth et Mulzer ont inoculé avec succès le virus syphilitique humain dans le testicule du lapin.

Après une incubation de trente à cinquante jours, le testicule et l'épididyme forment une masse unique, du volume d'un œuf de pigeon, à surface irrégulière, indolore, de consistance élastique. La ponction de cette masse ramène un liquide clair avec de nombreux Spirochètes, sans adjonction d'aucun autre microbe étranger. Les auteurs ont ainsi obtenu 10 résultats positifs sur 17 lapins inoculés. Chez cet animal, les lésions se résument dans cette orchite syphilitique, sans infection générale.

Hoffmann a reproduit les mêmes lésions chez le cobaye en injectant dans le testicule des fragments de testicule syphilitique de lapin.

Tomasczewski a obtenu chez le lapin une lésion primitive; après incision de la peau du scrotum, on pratique une poche sous-cutanée, où l'on insère un fragment de kératite spécifique ou de chancre humain. Il se produit tout d'abord une inflammation suppurée, puis, dix à treize jours après, au-dessous du fragment transplanté, se forme une infiltration bien localisée, dont le centre est occupé par une mince croûte, recouvrant une érosion où pullulent les Spirochètes. Sur 45 lapins, il obtint 39 résultats positifs.

Bruckner et Galasesko déterminèrent l'orchite spécifique en injectant des cultures de Tréponème dans le testicule du lapin : le testicule devint volumineux; deux mois après, on notait un œdème mou, gélatineux, enveloppant les deux testicules. La sérosité citrine de cet œdème renfermait de nombreux Tréponèmes.

Voie sanguine. — Uhlenhuth et Mulzer sont arrivés, par passages successifs du virus syphilitique chez le lapin, à en exalter la virulence. Ce virus exalté, introduit dans la circulation, provoque une infection générale.

Chez des lapins jeunes, l'inoculation intracardiaque de doses massives est suivie, au bout d'un certain temps, de tuméfactions du nez et de la queue, ressemblant à des gommes; les animaux maigrissent, ont du coryza, présentent des syphilis papulo-ulcéreuses. Dans toutes ces lésions, on constate la présence du Tréponème; ce dernier se trouve parfois dans le sang.

Sowade a reproduit l'infection syphilitique générale chez le lapin

par des injections intracardiaques de cultures de Tréponèmes. Les lésions furent semblables aux précédentes.

PLURALITÉ DES TRÉPONÈMES DE LA SYPHILIS.

Depuis longtemps, les cliniciens, Fournier en particulier, avaient mis en valeur certains arguments qui semblaient devoir faire admettre que, à côté du virus ordinaire de la syphilis, portant ses atteintes sur le derme et les viscères, il devait y avoir place pour un virus ayant une affinité élective pour le système nerveux, donnant lieu aux lésions connues du tabes et de la paralysie générale.

En effet, Fournier avait fait remarquer que chez les futurs tabétiques et paralytiques généraux, la syphilis évoluait en général d'une façon bénigne : accident primaire fugace, accidents secondaires éphémères ou inexistants, lésions tertiaires cutanées et viscérales exceptionnelles. Puis, dans les pays tropicaux, il est classique de constater l'absence presque complète de tabes et de paralysie générale, alors que la syphilis cutanée, muqueuse et viscérale est grave, les lésions tertiaires survenant de bonne heure avec fréquence des lésions osseuses. La fréquence de la syphilis nerveuse, conjugale et familiale, de l'apparition du tabes et de la paralysie générale chez des sujets contaminés à la même source plaidaient bien en faveur de cette conception dualiste.

Cette notion de l'existence vraisemblable de deux virus syphilitiques, l'un *neurotrope*, l'autre *dermotrope*, fut étudiée récemment par Levaditi et A. Marie sur des bases expérimentales du plus haut intérêt :

Ils ont étudié comparativement un Tréponème provenant du sang d'un paralytique général (virus neurotrope) et un Tréponème provenant d'un chancre syphilitique volumineux (virus dermotrope). Ces deux Tréponèmes, obtenus par inoculation sous la peau du scrotum de lapins, étaient entretenus par passages successifs sur ces animaux.

Les auteurs ont observé les faits suivants :

La période d'incubation séparant l'inoculation du virus neurotrope à l'animal de l'apparition de l'accident primitif est particulièrement longue : six semaines à quatre mois. Elle est beaucoup plus courte avec le virus dermotrope : quinze jours à six semaines.

Le virus neurotrope engendre chez le lapin des lésions essentiellement superficielles, érosions squameuses entourées d'une zone d'infiltration dermique. Le virus dermotrope engendre des lésions

ulcéreuses, indurées, à base cartilagineuse, couvertes de croûtes, intéressant à la fois le scrotum et la vaginale.

Les lésions histologiques de l'accident primitif expérimental sont plus légères et plus superficielles quand le virus neurotrope est en cause, que quand il s'agit du virus dermotrope. Malgré cela, les accidents provoqués par le virus neurotrope guérissent beaucoup plus lentement que ceux du virus dermotrope.

Le virus dermotrope conserve sa virulence pour les simiens inférieurs et les singes anthropoïdes, même après un très grand nombre de passages chez le lapin. Il continue à être pathogène pour l'homme, bien que donnant des accidents atténués, comme l'a montré un accident de laboratoire.

Le virus neurotrope est dépourvu de virulence pour les singes inférieurs et les anthropoïdes, même après passage chez le lapin. Inoculé à l'homme par scarification cutanée, il ne détermine aucune lésion.

Enfin des expériences de vaccination croisée avec l'un et l'autre virus ont donné le résultat suivant : les animaux guéris après avoir présenté des lésions locales provoquées, soit par le virus dermotrope, soit par le virus neurotrope, et qui, de ce fait, ont acquis l'état réfractaire à l'égard du Tréponème homologue, continuent à être réceptifs vis-à-vis du virus hétérologue.

D'après ces faits il semble donc que le Tréponème de la paralysie générale puisse être considéré comme une variété différente du Tréponème de la syphilis cutanée, muqueuse et viscérale, et que les syphilitiques voués au tabes et à la paralysie générale doivent être contaminés dès le début par une variété spéciale de Tréponème, ayant acquis sans doute à travers les âges une aptitude plus grande à se localiser dans les centres nerveux. D'ailleurs ce Tréponème neurotrope semble se transformer peu à peu dans l'organisme humain qu'il a infecté, son affinité pour le cerveau ou la moelle devenant de plus en plus marquée à mesure qu'il pullule dans la substance nerveuse.

Toutefois certains Tréponèmes paraissant d'emblée neurotropes vaccinent l'homme contre la syphilis cutanée et muqueuse. En renouvelant d'une façon plus précise les expériences de Kraft Ebing, Levaditi et A. Marie ont vu que l'inoculation par scarification cutanée du virus dermotrope à des paralytiques généraux n'était suivie de l'apparition d'aucun accident syphilitique.

CARACTÈRES DIFFÉRENTIELS DES SPIROCHÈTES VOISINS.

Treponema pallidum doit être, sous peine d'erreurs diagnostiques, différencié d'autres parasites (fig. 307) qui s'en rapprochent, d'autant que certains d'entre eux sont les hôtes de lésions ulcéreuses, qu'on peut confondre avec les lésions syphilitiques.

Spirochæta refringens. — C'est celui qui lui ressemble le plus ; il est d'ailleurs le plus souvent associé au Tréponème. Il est plus volumineux et plus trapu que ce dernier; ses ondulations, ses spires sont moins serrées

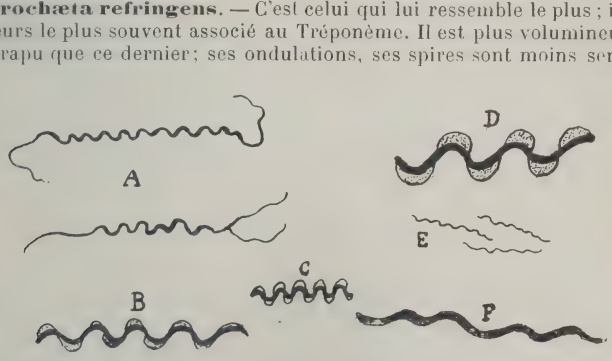


Fig. 307. — Différents Spirochètes.

A, Tréponème ; B, *refringens* ; C, Spirille du cancer ulcéré ; D, *Sp. plicatilis* ; E, *Sp. dentium* ; F, *Sp. Vincenti* (d'après Krzystalowicz et Siedlecki).

et moins régulières. Très mobile, il présente des oscillations et des déplacements brusques. Une fois coloré à l'encre de Löffler, il ne possède pas de cils, mais une membrane ondulante nette. Enfin il se colore par les moyens usuels, et le Giemsa le teinte en bleu.

Spirochæta dentium. — Il pullule dans les dents cariées : il ressemble beaucoup à *Tr. pallidum* ; il est cependant plus court, plus mince ; ses tours de spire sont plus lâches et moins nombreux. Sa mobilité est moins grande ; il n'a pas d'ondes de contraction et d'étirement (Gastou).

Spirochæta buccalis. — Il se trouve surtout dans le tartre dentaire. Ses spires sont moins serrées et moins nombreuses. Il se présente sous l'aspect d'un double trait avec, de temps à autre, des parties claires et des espèces de nœuds. Il présente des mouvements sinueux de reptation ; deux cils terminaux ; coloration facile par les moyens usuels.

Spirochæta plicatilis. — Ce dernier est gros, trapu ; ses spires sont larges et rares ; il présente une membrane ondulante et pas de cils.

Spirochæta Vincenti. — Il se rapproche beaucoup du *Spirochæta buccalis*. Les spires sont en nombre très irrégulier, parfois même à peine indiquées. Se colore faiblement par les moyens ordinaires. Siège dans les ulcérations de l'angine fuso-spirillaire de Vincent et dans la pourriture d'hôpital (Voy. ces mots).

Spirille de la balanite érosive. — Plus volumineux que le Tréponème. Ondulations peu marquées. Il est moins mobile. Quelquefois pourvu de cils à ses extrémités.

Spirochètes des cancers ulcérés. — Les cancers ulcérés donnent asile à plusieurs variétés de spirilles, décrites par Lœwenthal : l'une d'elles

est constituée par un Spirochète plus volumineux que le Tréponème, pourvu d'une membrane ondulante : ses ondulations sont irrégulières ; ses extrémités sont mousses et tronquées. L'autre est un Spirochète très fin à ondulations nombreuses, très rapprochées. Il se colore par le bleu de méthylène boraté.

Spirille d'Obermeier. — Gros filament à spires irrégulières. Agent pathogène de la fièvre récurrente. Se colore par les moyens usuels. Il ne peut être confondu avec le Tréponème.

Spirochæta pallidula ou pertenuis. — C'est l'agent pathogène du *pian*, donnant dans les pays chauds des lésions papillomateuses. Élément très fin, très long, de 18 à 20 μ, ondulations irrégulières, souvent spiralé sur une partie de son étendue, déroulé sur l'autre. Se recourbe parfois en V ou en S (Castellani, Levaditi et Nattan-Larrier) ; extrémités effilées, ou mousses, parfois terminées en boucle. Quelques auteurs ont décrit un flagelle.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA SYPHILIS.

Le diagnostic bactériologique de la syphilis peut s'effectuer de plusieurs façons. On procède à la recherche directe du Tréponème au niveau de lésions accessibles à un prélèvement de matériel, ou dans le sang. Si les résultats de l'épreuve restent négatifs, ou bien si, au moment de l'examen, les altérations ne peuvent convenir à une recherche directe, on procède à une série de procédés indirects ; ces derniers ont pour but de mettre en évidence les réactions causées par le virus qu'on n'a pas pu déceler ; il s'agit dans ce cas d'un véritable sérodiagnostic.

Toutes ces épreuves doivent être effectuées avec une grande rigueur, car rien n'est plus variable que le nombre des Tréponèmes dans une lésion syphilitique. Celle-ci, quand elle est ulcérée, peut contenir des germes analogues au *Treponema pallidum*, et cependant complètement étrangers à ce dernier. C'est en pareil cas surtout qu'il ne faut affirmer sa présence qu'avec la plus grande circonspection.

Recherche du Tréponème.

Prélèvement des produits à examiner. — S'il s'agit d'un CHANCRE, nettoyer soigneusement la lésion à l'aide d'un tampon d'ouate imbibé d'eau physiologique stérile, puis d'un tampon sec pour enlever les souillures superficielles. La derme est ainsi mis à nu. Faire sourdre un peu de sérosité, en comprimant le pourtour entre les doigts, ou mieux, comme le conseillent Thibierge, Ravaut et Le Sourd, gratter avec un vaccinostyle stérile, ce qui provoque l'exsudation d'une rosée séreuse, où les Tréponèmes se retrouveront.

Tribondeau conseille de scarifier (bistouri ou vaccinostyle). Avec la pointe de l'instrument, pratiquer à l'endroit choisi, sur les confins de l'ulcération (en pleine zone d'accroissement de la lésion), quelques petites scarifications parallèles entre elles, courtes (2 ou 3 millimètres environ) et juste assez profondes pour faire saigner (fig. 308).

Faire sourdre le suc chancreux en pinçant, quand c'est possible, le chancre entre le pouce et l'index gauches. Si, au début, du sang pur s'écoule en abondance, arrêter l'hémorragie par une courte compression à l'aide d'un tampon de coton.

Recueillir la sérosité sanglante qui suinte, par raclage au niveau des scarifications, avec le tranchant de l'instrument qui a servi à

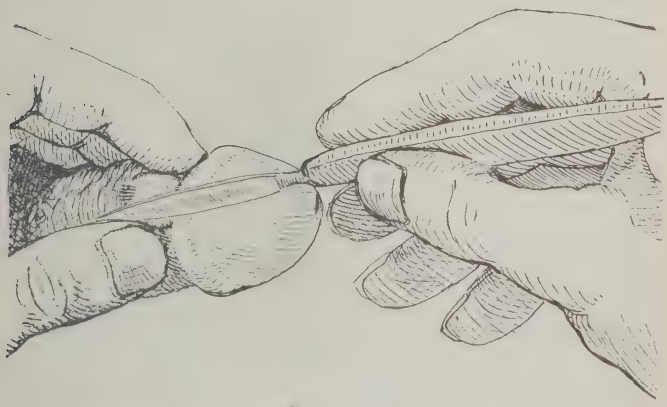


Fig. 308. — Prélèvement du suc chancreux. Les scarifications viennent d'être faites, on y recueillir le suc par raclage avec le tranchant de l'instrument.

les pratiquer. Déposer le suc sur lames de verre porte-objets et, toujours à l'aide du même instrument, l'étaler en couche mince et uniforme.

Laisser sécher. On peut hâter la dessiccation du frottis par agitation de la lame à l'air, mais *ne pas chauffer*.

En présence d'une PAPULE, d'une *tache de roséole*, scarifier légèrement les lésions, recueillir l'exsudat et en faire un frottis comme précédemment. Zabolotny conseille l'application d'une petite ventouse de Bier pour faciliter l'exsudation.

Le SUC GANGLIONNAIRE se recueille par ponction à l'aide d'une aiguille et d'une seringue de Pravaz.

Pour les GOMMES, le prélèvement doit s'effectuer au niveau de la paroi par grattage.

Le prélèvement du sang demande une technique un peu spéciale : après ponction d'une veine du bras, on peut le traiter de diverses façons :

Nattan-Larrier et Bergeron en répartissent 10 centimètres cubes dans deux ballons contenant chacun 100 centimètres cubes d'eau distillée. L'hémolyse une fois produite, on centrifuge. On étale ensuite sur lames le culot de centrifugation. Sécher, fixer par l'alcool-éther.

Ravaut et Ponselle font tomber le sang dans 30 centimètres cubes d'eau distillée. On recueille le caillot ; le laver, le durcir, le colorer comme une pièce anatomique par le procédé d'imprégnation argentique de Levaditi (Voy. p. 860) et le débiter en coupes.

Recherche à l'état frais par l'ultramicroscope. — L'examen à l'état frais dans les conditions ordinaires, sans le secours de l'ultramicroscope, est difficile et infidèle. Il faut recourir à l'examen ultramicroscopique (fig. 304), qui, d'après Gastou et d'autres, constitue le procédé le plus sûr pour la découverte et le diagnostic différentiel du Tréponème.

Quand l'appareil est bien réglé, on dépose entre lame et lamelle une gouttelette de la sérosité recueillie. L'examen effectué avec toutes les précautions requises (p. 841) met en évidence le Tréponème avec tous les caractères morphologiques et de mobilité qui lui ont été assignés. Il faut néanmoins le différencier rigoureusement des autres parasites analogues, qui se rencontrent dans les lésions ulcéreuses de diverse nature, où ils vivent en saprophytes.

Recherche du Tréponème par la méthode de l'encre de Chine. — Le procédé est dû à Burri. Les Tréponèmes ressortent en blanc sur le fond noir ou brunâtre de la préparation ; les images sont analogues à celles que donne l'éclairage sur fond noir.

L'encre est préparée à l'aide de noir de fumée très fin, que l'on met en suspension dans un liquide gommeux ; en raison de l'extrême finesse et de la densité des particules charbonneuses, le fond noir est uniforme, même aux plus forts grossissements.

L'encre de Chine doit être stérile pour éviter dans son sein le développement de microorganismes dont la présence peut occasionner des causes d'erreur. Une trace de formol suffit pour en assurer la conservation.

La recherche des Tréponèmes s'effectue de la façon suivante :

1° Déposer sur une lame une goutte d'eau distillée à laquelle on ajoute une gouttelette de la sérosité à examiner.

2° Ajouter une gouttelette d'encre de Chine ; mélanger.

3° Étaler en couche mince comme pour le sang, à l'aide d'une lamelle ou d'une effilure de verre.

4° Sécher par agitation sans chauffer.

5° Examiner à l'immersion.

Sur le fond noir, on voit apparaître en blanc des hématies, sous forme de taches claires circulaires, des bactéries, des débris cellulaires de forme variable ; enfin des Tréponèmes faciles à reconnaître ; on perçoit nettement les spires qu'on peut compter aisément, et les extrémités qui s'effilent.

Recherche du Tréponème dans les frottis après coloration. — Bien des procédés de coloration ont été préconisés; nous indiquerons ici les plus usités et ceux qui donnent les meilleurs résultats.

Méthode de Giemsa. — 1° *Fixer* le frottis par immersion de dix à trente minutes dans l'alcool absolu.

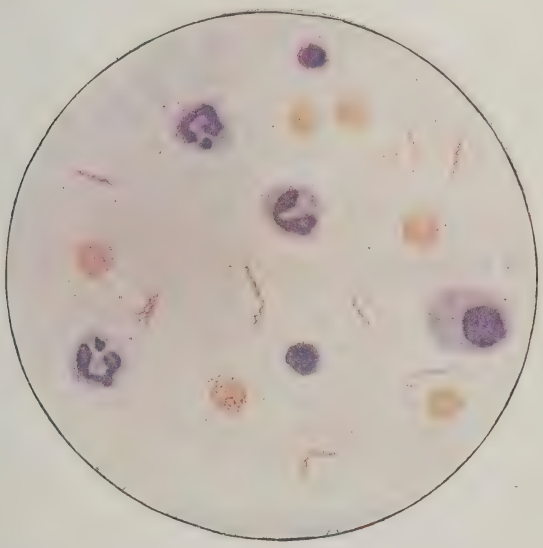


Fig. 309. — Frottis de chancre syphilitique. Coloration par le Giemsa.

Azur II. Eosine.....	3 grammes.
Azur II.....	0gr,8
Glycérine.....	250 grammes.
Alcool méthylique.....	250 —

Verser dans un tube de Borrel ce colorant dilué dans les proportions suivantes :

Liquide de Giemsa.....	XXXV gouttes.
Eau distillée.....	20 cent. cubes.

Y plonger la lame à colorer et laisser séjourner pendant vingt-quatre heures.

2° Colorer par le colorant de Giemsa.

3° Laver à l'eau propre. Sécher. Examiner à l'immersion. Les Tréponèmes sont colorés en violet clair.

Cette recherche demande une grande attention car les Tréponèmes sont souvent peu abondants et, par leur teinte pâle, passent facilement inaperçus.

Tel est le *procédé lent*. Il existe un *procédé rapide* ; c'est le suivant :

Même fixation. Coloration pendant deux heures dans le mélange ci dessou :

Liquide de Giemsa.....	X gouttes.
Solution de carbonate de soude 1 p. 100.	X —
Eau distillée.....	10 cent. cubes.

Après lavage à l'eau et séchage, on peut observer.

Enfin, Preiss, Giemsa préconisent encore un autre procédé rendu rapide par l'*action de la chaleur*. Voici celui que conseille Giemsa :

1° Fixer par la chaleur (flamme d'un bec Bunsen).

2° Verser sur la lame la solution du procédé rapide.

3° Chauffer la lame jusqu'à émission de vapeurs (éviter l'ébullition).

4° Verser le liquide usagé ; le remplacer par du liquide neuf. Répéter cette opération trois fois ; à la dernière, prolonger la coloration pendant trente à soixante secondes.

5° Laver, sécher, examiner.

Méthode de Marino. — Ce procédé n'est qu'un dérivé de celui de Giemsa. Préparer deux solutions :

Solution A. —	Alcool méthylique.....	100 grammes.
	Poudre de Marino.....	0gr,25
Solution B. —	Eau distillée.....	200 grammes.
	Éosine de Höchst.....	0gr,01

1° Laisser sécher le frottis. *Ne pas fixer.*

2° Verser sur la préparation plusieurs gouttes de solution A. Laisser en contact cinq à dix minutes.

3° Rejeter le colorant ; sans laver, déposer quelques gouttes de solution B ; laisser agir trois à cinq minutes.

4° Laver, sécher, observer.

Les Tréponèmes présentent une teinte violet pâle.

Cette méthode a l'inconvénient de déterminer des précipités qui masquent plus ou moins les détails de la préparation.

Méthodes au violet de gentiane. — Oppenheim et Sachs font agir sur des frottis séchés, mais non fixés, la solution de violet de gentiane. On chauffe jusqu'à émission de vapeurs.

Herscheimer emploie la fixation à l'alcool et la coloration avec une solution de violet de gentiane saturée à chaud et filtrée. La coloration dure quinze minutes. Laver à l'eau, sécher et observer.

Méthodes basées sur un mordançage préalable. — Avec ces méthodes, la coloration s'effectue après l'action d'un mordant.

Méthode de Proca et Vasilescu. — 1° Fixer par l'alcool.
2° Mordancer par la solution A pendant dix minutes à froid.

Solution A. — Acide phénique pur.. .. 50 grammes.
Tanin..... 40 —
Eau..... ..... 100 —
Fuchsine basique... .... 2gr,50 dissoute dans
Alcool absolu..... 100 grammes.

Laver, puis colorer avec :

Solution B. — Violet de gentiane en solution alcoolique saturée. 10 cent. cubes.
Acide phénique liquide... 5 —
Eau distillée..... 100 —

Laver à l'eau, sécher, observer.

Procédé de Löffler. — Il consiste dans le mordançage à l'aide d'une solution arsenicale, avant la coloration par le Giemsa.

On prépare :
1° Une solution à 0,5 p. 100 de malakitgrünkrystallchlorzink ;
2° Une solution à 0,5 p. 100 d'arséniate de soude ;
3° Une solution à 0,5 p. 100 de glycérine pure.
Fixer par l'alcool-éther.
Mordancer avec le mélange formé de :
III gouttes de la solution arsenicale (B).
I goutte de la solution de vert-malachite (A).
En verser quelques gouttes sur la lame que l'on maintient sur la veilleuse jusqu'à production de légères vapeurs.
Laver avec un jet d'eau assez fort.
Colorer en versant sur la lame un mélange bouillant formé de :

Solution glycérinée (C)..... 5 cent. cubes.
Solution de Giemsa ..... V à X gouttes.

Chauffer ce mélange à ébullition, le verser à chaud sur la préparation. Laisser agir cinq minutes, puis laver à l'eau.

Méthode de Borrel et Burnet. — Le procédé suivant donne une excellente coloration du Spirochète et même de ses cils :

Exciser un petit fragment de tissu pathologique (chancre, papule, etc.). Le porter successivement sur plusieurs lames où l'on a déposé une goutte d'eau distillée. Gratter le tissu avec une pointe de bistouri : le produit de raclage se répand dans la goutte. Laisser sécher.

Mordancer en versant sur la lame quelques gouttes du mordant de Löffler.

Solution aqueuse de tanin à l'éther à 1 p. 5..	10	cent. cubes.
— — de sulfate ferreux saturée à froid.....	5	—
— — saturée de fuchsine dans l'alcool absolu.....	1	cent. cube.

Chauffer doucement jusqu'à production de vapeurs. On répète ce mordançage trois à quatre fois de suite. Laver à l'eau.

Verser quelques gouttes de fuchsine de Ziehl et chauffer de nouveau jusqu'à émission de vapeurs. Laver, sécher, observer.

Procédé de nitratation de Fontana-Tribondeau. — Le procédé de Fontana, modifié par Tribondeau, est basé sur l'emploi du nitrate d'argent ammoniacal. Procédé simple, rapide, donnant d'excellents résultats.

Réactifs nécessaires. — 1° Une solution de *formol acétique* (liquide de Ruge), ainsi composée :

Acide acétique pur.....	1	cent. cube.
Formol du commerce à 40 p. 100.....	2	cent. cubes.
Eau distillée.....	100	—

2° Une solution de *mordançage* :

Tanin à l'alcool ou à l'éther.....	1	gramme.
Eau distillée.....	20	cent. cubes.

Pour la préparer : faire dissoudre le tanin dans l'eau très chaude (après refroidissement, ajouter un morceau de camphre pour empêcher le développement des moisissures).

3° La *solution de Fontana* :

Nitrate d'argent cristallisé.....	1	gramme.
Eau distillée.....	20	cent. cubes.

Faire dissoudre le nitrate d'argent à froid. Verser la presque totalité de la solution dans un verre à pied. (Réserver le peu qui reste.) Ajouter peu à peu de l'ammoniaque pure avec une pipette, en agitant constamment à l'aide d'une baguette de verre ; il se forme un précipité brunâtre qui fonce progressivement, puis se décolore assez vite. A partir du moment où la décoloration commence, ne plus verser l'ammoniaque que très lentement, et s'arrêter quand la solution est encore très légèrement opalescente : si elle devient eau de roche, ajouter lentement un peu de solution réservée, jusqu'à production de la faible opalescence désirée.

Nitratation. — *Premier temps : Déshémoglobinisation.* — Arroser la préparation avec du liquide de Ruge ; renouveler plusieurs fois jusqu'à ce qu'il s'écoule incolore (insister assez pour que le frottis soit bien blanc, car l'hémoglobine accaparerait l'argent, masquerait les Spirochètes et gênerait leur coloration). Egoutter en secouant.

Deuxième temps : Lavage. Fixation. — Laver en versant sur la lame tenue penchée de l'alcool fort (80° à 100°). Sécher en mettant le feu à ce qui reste d'alcool sur la lame, et en éteignant presque aussitôt après (en soufflant sur la lame, de son talon vers son extrémité); on réalise en même temps, de cette façon, un chauffage modéré qui parfait la fixation.

Troisième temps : Mordançage. — Recouvrir d'une épaisse couche de solution mordançante. Puis, promener la préparation sur la veilleuse d'un bec Bunsen (ou sur toute source de chaleur équivalente), jusqu'à dégagement abondant de vapeurs, mais sans faire bouillir, et en évitant que le liquide laisse des parties à découvert. Retirer alors la préparation de la flamme, et ne rejeter la solution mordançante que trente secondes après.

Quatrième temps : Lavage. — Bien laver à l'eau ordinaire sous mince jet de robinet (trente secondes environ). Rincer rapidement à l'eau distillée. Egoutter en secouant ; inutile de sécher.

Cinquième temps : Imprégnation par l'argent. — Recouvrir d'une bonne couche de liquide de Fontana. Laisser agir pendant quelques instants à froid, jusqu'à ce que la coloration soit bien amorcée (teinte marron clair).

Rejeter le liquide de Fontana ; le renouveler ; chauffer comme il a été dit au 3e temps, mais retirer de la flamme dès les premières vapeurs. Laisser agir ensuite pendant quinze secondes (le frottis doit avoir à ce moment une teinte marron à reflets métalliques). Rejeter le Fontana.

Sixième temps : Dernier lavage et séchage. — Laver à l'eau *distillée* pendant quelques secondes (éviter l'eau ordinaire qui fait pâlir la teinte).

Sécher en épongeant sous papier-filtre, ou bien passer à deux ou trois reprises rapides la lame toute mouillée sur la flamme du Bunsen, et souffler aussitôt fortement depuis son talon vers son extrémité libre.

Examiner la préparation à l'immersion.

Les Spirochètes, colorés en brun jaunâtre ou noirâtre, sont d'une netteté parfaite.

Méthode de Ravaut. — Elle est basée sur l'emploi de l'*albuminate d'argent* ou *largine* :

1° Fixer par l'alcool méthylique, ou encore par les vapeurs d'acide osmique.

2° Immerger la lame dans un tube de Borrel fermé, contenant la solution suivante :

Largine de Lilienfeld.....	2 grammes.
Eau distillée.....	100 cent. cubes.

Mettre le tout à l'étuve à 55° pendant deux heures.

3° Retirer la lame, sans la laver ; la plonger dans une solution d'acide pyrogallique à 5 p. 100 pour obtenir une réduction qui s'effectue instantanément.

4° Laver à l'eau, immerger à nouveau dans la solution de largine portée pendant trente minutes à 55°, puis dans le bain d'acide pyrogallique.

5° Laver, sécher, observer.

Le Spirochète de la syphilis est teinté en brun foncé.

Recherche et coloration dans les coupes, — Dans les coupes, la différenciation du Tréponème s'obtient difficilement; elle

ne s'opère que grâce aux méthodes d'*imprégnation argentique* que Van Ermenghen avait utilisées pour la mise en évidence des cils microbiens. Bertarelli, Volpino et Bovero ont montré que, dans ces conditions, les Spirochètes se colorent en brun ou en noir dans les tissus. Peu après, Levaditi obtint des résultats meilleurs par l'emploi de la méthode d'imprégnation indiquée par Ramon y Cajal pour la coloration des fibrilles nerveuses.

Technique de Levaditi. — 1° Des fragments d'organes ayant environ 1 millimètre d'épaisseur sont fixés dans du formol à 10 p. 100 pendant vingt-quatre heures.

2° Lavage et durcissement dans l'alcool à 96° pendant vingt-quatre heures.

3° Lavage à l'eau distillée pendant quelques minutes jusqu'à ce que les fragments tombent au fond du récipient.

4° Imprégnation à l'aide d'une solution de nitrate d'argent à 1,5 ou 3 p. 100 (cette dernière concentration est préférable pour les tissus prélevés sur le vivant). Placer les flacons à l'étuve à 38° pendant trois à cinq jours.

5° Lavage à l'eau distillée pendant quelques minutes, puis réduction à la température de la chambre, pendant vingt-quatre à quarante-huit heures, avec la solution réductrice suivante (développateur) :

Acide pyrogallique.....	2 à 4 p. 100
Formol (solution à 40 p. 100).....	5 cent. cubes,
Eau distillée.....	100 —

6° Lavage à l'eau distillée, puis déshydratation à l'alcool, puis au xylol ; inclusion dans la paraffine. Coupes.

On peut examiner les coupes directement. Les Spirochètes se détachent en noir ou en brun foncé sur le fond jaune des tissus (fig. 306). La coloration des cellules par un colorant d'aniline donne un contraste plus parfait ; on aura recours à l'un des procédés suivants :

1° Colorer pendant quelques minutes avec le mélange de Giemsa.

Laver à l'eau. Différencier par l'alcool absolu additionné de quelques gouttes d'essence de girofle, essence de bergamote, xylol, baume du Canada.

2° Colorer pendant quelques minutes avec une solution concentrée de bleu de toluidine. Différencier à l'alcool additionné de quelques gouttes du mélange éther-glycérine (Unna), essence de bergamote, xylol, baume du Canada.

Par ces colorations complémentaires, les noyaux cellulaires se colorent en bleu, et le protoplasma prend une coloration brun verdâtre clair, sur laquelle les Spirochètes se détachent plus nettement.

Levaditi et Manouélian ont encore perfectionné la méthode d'imprégnation, et préconisent actuellement la technique suivante :

1°, 2°, 3° Comme ci-dessus.
4° Imprégnation dans le bain suivant :

Solution de nitrate d'argent à 1 p. 100...	100 grammes.
Pyridine.....	10 —

La pyridine est ajoutée au moment de l'emploi. C'est un produit d'odeur pénétrante qui ne doit être manipulé que sous la hotte.

Le bain d'imprégnation est disposé avec la pièce dans un flacon bouché à l'émeri et pendant quatre à six heures à l'étuve à 40° à 50°.

Ces indications s'appliquent en particulier à la recherche des Spirochètes dans les parois du chancre.

On lave rapidement dans une solution de pyridine à 10 p. 100.

On réduit dans le bain suivant :

Solution d'acide pyrogallique à 4 p. 100.	100 grammes.
Acétone.....	10 —
Pyridine.....	15 —

La réduction s'opère au bout de quelques heures.

Monter dans la paraffine ou la celloïdine.

Couper et monter après coloration au bleu de Unna ou au bleu de toluidine.

La coloration des Spirochètes et des tissus est la même que dans la méthode précédente, mais le nombre des Spirochètes imprégnés est plus grand.

Inoculation à l'animal.

Dans les cas où le diagnostic reste en suspens, cas où l'observation microscopique ne donne pas de résultat définitif, on peut recourir à l'inoculation à l'animal.

Utiliser de préférence, en raison de leur prix peu élevé, les singes inférieurs, macaques notamment. On les inoculera suivant la méthode de Thibierge et Ravaut, au niveau du bord libre de la paupière supérieure. En cas de syphilis, on observera les lésions décrites plus haut (p. 846).

Ou bien on aura recours à l'inoculation intra-oculaire chez le lapin, suivant le procédé de Bertarelli (Voy. p. 847).

Ces méthodes ont toutefois l'inconvénient de donner des résultats tardifs, car il faut attendre la fin de la période d'incubation.

Les épreuves de sérodiagnostic semblent préférables à cet égard, car elles sont susceptibles de renseigner plus rapidement.

Sérodiagnostic.

Le sérodiagnostic de la syphilis est né du jour où Wassermann, Neisser et Brück, utilisant la méthode de Bordet-Gengou, ont mon-

tré que l'antigène syphilitique pouvait fixer le complément en présence de sérum de syphilitiques.

Réaction de fixation de Bordet-Wassermann. — *Technique.* — On prépare tout d'abord le matériel suivant :

Préparation de l'antigène. — L'antigène syphilitique peut être obtenu de plusieurs façons :

a. *Extrait de foie de nouveau-né hérédo-syphilitique.* — On sait qu'un tel foie est très riche en Tréponèmes. Pour le préparer, on coupe le tissu en petits fragments, que l'on broie dans un mortier ou dans le broyeur Latapie.

On en met à macérer 1 partie pour 4 parties d'eau physiologique phéniquée à 5 p. 1 000 ; puis on soumet la macération pendant vingt-quatre heures à l'action d'un agitateur mécanique.

Décanter, centrifuger.

Le liquide clair obtenu est l'extrait qui servira d'antigène.

Certains auteurs recueillent la bouillie obtenue après broyage, la dessèchent dans le vide ; on obtient ainsi une poudre brunâtre, que l'on peut conserver et qui garde longtemps ses propriétés d'antigène.

Pour s'en servir, on émulsionne 1 gramme de cette poudre dans 30 centimètres cubes d'eau physiologique.

Après vingt-quatre heures de contact, on centrifuge; le liquide obtenu sert d'antigène.

b. *Extrait alcoolique.* — Landsteiner a préparé un extrait alcoolique ; on émulsionne 1 partie de la poudre précédente dans 30 parties d'alcool absolu ; l'émulsion est abandonnée pendant quarante-huit heures dans un flacon bouché à l'émeri (on doit agiter fréquemment), puis filtrée sur papier.

Quand on veut s'en servir, on ajoute à cet extrait alcoolique dix fois son volume d'eau.

c. *Extrait d'organes non syphilitiques.* — L'expérience montre qu'on peut utiliser comme antigène l'extrait d'organes non syphilitiques.

On emploie de préférence l'extrait de foie, de cœur de cobaye, etc.

d. *Antigène de Desmoulières.* — Il est constitué par de la cholestérine pure dissoute dans une macération alcoolique de poudre de foie épuisée par l'éther :

Cholestérine pure.....		1 gramme.
Solution de lécithine (0gr,50) dans Q. S. d'alcool absolu pour faire 10) cent. cubes.		10 cent. cubes.
Solution de 37 gr. de savon de soude sec dans 1 000 cent. cubes d'alcool à 60°...		3 —
Alcool absolu.....	Q. S. pour faire	100 —

Préparation de l'anticorps. — L'anticorps à préparer est le sérum du sujet suspect de syphilis.

Après prélèvement (ponction de veine ou ventouse) et coagulation, on le chauffe à 56° pendant trente minutes.

On peut se servir aussi, en certaines circonstances (paralysie générale), du liquide céphalo-rachidien, dont le chauffage est inutile, puisqu'il ne contient pas d'alexine.

Préparation du complément ou alexine. — L'alexine est du sérum de cobaye, recueilli la veille et dosé comme il a été dit (p. 73).

Préparation du système hémolytique. — On utilise du sérum mouton-lapin, chauffé à 56° pendant trente minutes et bien dosé, et des globules de moutons lavés à l'eau physiologique.

Dispositif de la réaction. — Dans un porte-tubes, on dispose plusieurs séries de tubes (fig. 310), où l'on verse successivement les divers produits précédents en quantité optima, déterminée par un dosage préalable.

Pour effectuer la réaction dans toutes les conditions de rigueur possibles, on utilisera :

1° Une série de tubes pour le sérum à expertiser.

2° Une série de tubes pour du sérum normal.

3° Une série de tubes pour du sérum syphilitique déjà éprouvé par une réaction antérieure, cette série devant servir de témoin.

4° Une série de tubes témoins, tous sans sérum, l'un avec, l'autre sans alexine.

La réaction étant ainsi préparée, on mélange alors soigneusement le contenu de chaque tube, et l'on porte le tout à l'étuve à 37° pendant deux heures.

Après ce séjour, on ajoute dans chaque tube le système hémolytique (sérum mouton-lapin et hématies lavées de mouton).

Nouveau séjour à l'étuve pendant une heure, puis à la glacière jusqu'au lendemain, où l'on observe les résultats.

La figure 310 et le tableau suivant indiquent mieux que toute description la disposition de l'expérience, les doses à employer et les résultats qu'on doit obtenir en général.

D'après les données générales établies plus haut (p. 75), la réaction est positive quand l'antigène a fixé le complément et que l'hémolyse, empêchée, est nulle. Mais pour pouvoir affirmer ce résultat, il faut que dans les autres séries de tubes les résultats soient corrects, montrant par les « témoins » que la réaction a été bien effectuée.

Valeur diagnostique. — Des innombrables recherches effectuées avec cette réaction pour le diagnostic de la syphilis, on a déduit les données suivantes :

Dans les cas de syphilis avérée, la réaction est positive dans 70 à 90 p. 100 des cas; chez les sujets non syphilitiques, la réaction est nulle (réserve doit être faite cependant pour la lèpre et la scarlatine, où l'on peut observer 6 à 8 p. 100 de résultats positifs).

Dans la **syphilis primaire, avant l'apparition de la roséole**, la proportion des cas positifs ne s'élève qu'à 40 à 45 p. 100.

Dans la **période secondaire, après l'apparition de la roséole**, le taux s'élève à 80 p. 100 en moyenne.

Dans la **syphilis tertiaire**, il atteint encore 80 à 85 p. 100. C'est dire tout l'intérêt et toute l'importance pratique qui s'attachent à

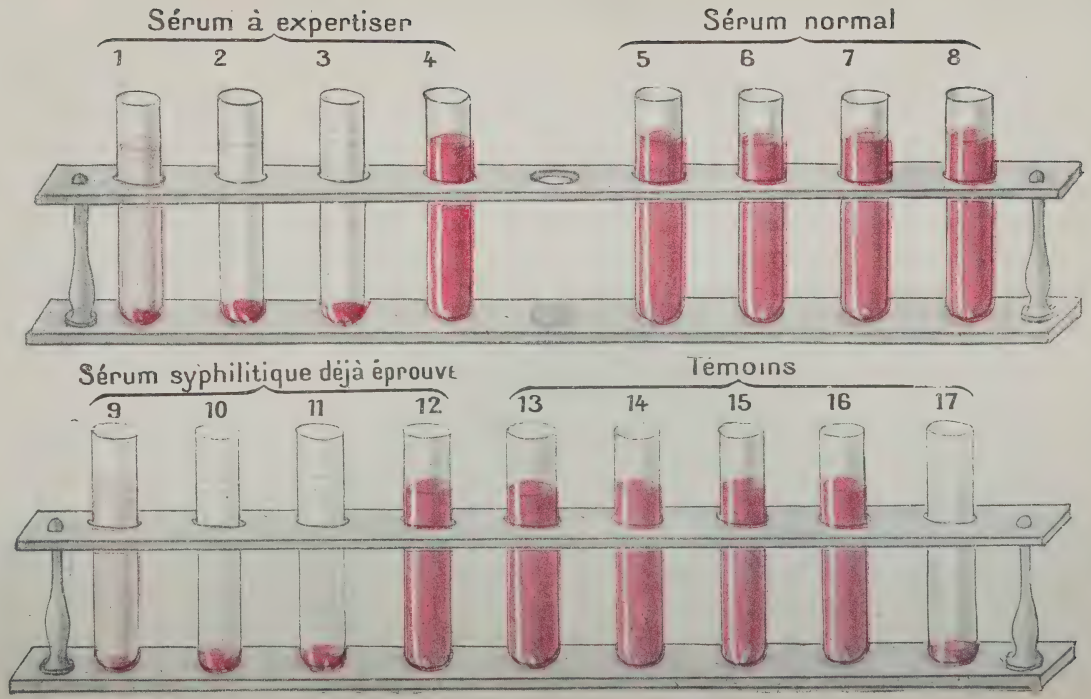


Fig. 340. — Dispositif de la réaction de Wassermann.

		Antigène.	Sérum à expertiser.	Sérum normal.	Sérum de syphilitique éprouvé.	Alexine.	Eau physiologique à 8 p. 1000.	SYSTÈME hémolytique : Globules rouges de mouton.	SYSTÈME hémolytique : Amboceptur.	RÉSULTATS.
Sérum à expertiser.	1	0,1	0,2	—	—	0,1	1,5	0,1	1	Hémol. partielle
	2	0,2	0,2	—	—	0,1	1,4	0,1	1	Hémolyse = 0
	3	0,3	0,2	—	—	0,1	1,3	0,1	1	Hémolyse = 0
	4	—	0,2	—	—	0,1	1,6	0,1	1	Hémolyse = +
Sérum normal.	5	0,1	—	0,2	—	0,1	1,5	0,1	1	Hémolyse = +
	6	0,2	—	0,2	—	0,1	1,4	0,1	1	—
	7	0,3	—	0,2	—	0,1	1,3	0,1	1	—
	8	—	—	0,2	—	0,1	1,6	0,1	1	—
Sérum syphil. éprouvé.	9	0,1	—	—	0,2	0,1	1,5	0,1	1	Hémol. partielle
	10	0,2	—	—	0,2	0,1	1,4	0,1	1	Hémolyse = 0
	11	0,3	—	—	0,2	0,1	1,3	0,1	1	Hémolyse = 0
	12	—	—	—	0,2	0,1	1,6	0,1	1	Hémolyse = +
Témoins.	13	0,1	—	—	—	0,1	1,7	0,1	1	Hémolyse = +
	14	0,2	—	—	—	0,1	1,6	0,1	1	—
	15	0,3	—	—	—	0,1	1,5	0,1	1	—
	16	—	—	—	—	0,1	1,8	0,1	1	—
	17	—	—	—	—	—	1,9	0,1	1	Hémolyse = 0

cette réaction, pour éclairer la nature de lésions difficiles à diagnostiquer.

Dans la **syphilis latente**, son importance peut être plus grande encore, car la réaction permet de dépister l'infection, qui, au point de vue clinique pur, reste méconnue; on note en moyenne 50 p. 100 de résultats primitifs.

Une application intéressante de la réaction de Wassermann a été

faite par Levaditi, Ravaut et Yamanouchi au **diagnostic des syphilis nerveuses et des accidents parasyphilitiques** (tabes et paralysie générale) en recherchant les anticorps dans le *liquide céphalo-rachidien.*

Dans le *tabes*, la réaction donne en moyenne 50 à 70 p. 100 de résultats positifs; dans la *paralysie générale*, 90 à 95 p. 100; dans la *syphilis cérébro-spinale*, 40 p. 100. La réaction s'effectue comme avec le sérum, mais il faut 1 centimètre cube de liquide céphalo-rachidien pour l'obtenir.

Influence du traitement sur la réaction. — Sous l'influence du traitement mercuriel, la réaction de Wassermann disparaît dans un certain nombre de cas, mais pour reparaître parfois dans un délai plus ou moins éloigné. En d'autres, elle reste immuable.

A la suite du traitement par l'arsénobenzol, dans la grande majorité des cas, la réaction devient négative; celle-ci disparaît d'autant plus rapidement que la dose du médicament injecté a été plus élevée. Les récidives sont habituellement précédées par un retour de la réaction à l'état positif.

Par contre, il arrive en certains cas que, sous l'influence de ce traitement, une réaction négative devienne positive quelques jours après l'injection de *606* ou d'*hectine*. C'est ce que Milian a nommé la *réactivation biologique de la réaction de Wassermann.*

Ravaut estime qu'il est dangereux de faire jouer à la réaction de Wassermann un trop grand rôle dans la direction du traitement; certaines réactions positives restent telles en permanence malgré la thérapeutique; de plus une réaction négative ne suffit pas à elle seule pour faire considérer le malade comme guéri et faire suspendre le traitement.

La réaction est-elle de nature spécifique? — On a vu plus haut que l'extrait de foie syphilitique peut être remplacé par l'extrait hépatique non syphilitique, voire même par l'extrait d'autres organes normaux, notamment le cœur de cobaye; les résultats de la réaction ne changent pas. Ces constatations de Levaditi et Marie, Armand Delille, etc., étaient de nature à faire dénier à la réaction tout caractère de spécificité.

Les recherches ultérieures de Levaditi, Eisler, Porges et Meier, Landsteiner, etc., montrèrent que les lécithines en solution alcoolique provenant de l'extrait hépatique, de même aussi des sels biliaires (taurocholate et glycocholate de soude à 1 p. 100), l'antigène de Desmoulières fixaient le complément en présence de sérums syphilitiques.

Plus tard Levaditi et Yamanouchi, puis Landsteiner, Porges et

Meier, etc. montrèrent que le principe actif de ces extraits était soluble dans l'alcool; en cherchant à déterminer la nature de ce principe, ils constatèrent que l'extrait alcoolique d'organes pouvait être remplacé par de la lécithine (Porges), ou par des sels biliaires (taurocholate et glycocholate de soude à 1 p. 100, Levaditi et Yamanouchi), ou par une solution alcoolique d'un mélange d'oléate de soude et de lécithine; tous ces produits paraissent en effet fixer le complément en présence du sérum syphilitique.

De tels faits prouvèrent nettement que la réaction dite de Wassermann ne traduisait en aucune façon l'action d'un anticorps spécifique. D'ailleurs les recherches d'agglutination de sérums syphilitiques à réaction positive, sur le Tréponème du liquide céphalo-rachidien, sont restées totalement négatives (Levaditi et Marie, Kolmer).

Le mécanisme de la réaction demandait à être éclairci. Aux yeux de Levaditi et Yamanouchi, la réaction serait due à l'existence, dans le sérum des syphilitiques, de certaines substances colloïdales qui précipiteraient en présence des sels biliaires et des lipoïdes du foie, et assureraient la fixation du complément hémolytique.

Porges et ses collaborateurs confirmèrent l'existence de cette précipitation, en s'appuyant sur les recherches de Landsteiner concernant les propriétés des globulines isolées des sérums normaux et des sérums syphilitiques ; ils estiment qu'il se produit, dans la réaction de Wassermann, une floculation des globulines instables du sérum syphilitique au contact des substances colloïdes des extraits; cette floculation inhiberait l'action de l'alexine.

D'ailleurs l'alcalinisation, le chauffage, etc. exercent sur la floculation des globulines la même action que sur la réaction de Wassermann.

Jakobstahl a apporté une confirmation de cette hypothèse en montrant, à l'ultramicroscope, la formation de granules au contact d'extrait et de sérum syphilitique, alors que la floculation était imperceptible à l'œil nu; elle ne se produit pas avec les sérums normaux. Ainsi l'auteur a-t-il tiré parti de cette constatation pour proposer un procédé de sérodiagnostic ultramicroscopique.

La pensée des modifications qui s'opèrent ainsi dans le sérum syphilitique a été interprétée diversement par les auteurs. L'accord n'est pas encore fait. Quoi qu'il en soit, il y a lieu de retenir cette constatation essentielle, à savoir qu'il se produit, au cours de la syphilis, un changement de l'état physique ou physico-chimique du sérum intéressant plus spécialement les globulines.

Par conséquent le phénomène révélé par la réaction de Wasser-

mann, contrairement à ce que pensait son auteur, ne traduit en aucune façon l'action spécifique d'un anticorps sur un antigène, suivant la conception généralement admise pour les autres infections; il ne s'agit aucunement d'une réaction d'immunité.

Critiques sur la valeur de la réaction. — Il y a quelques années la valeur diagnostique de la réaction décrite par Wassermann et ses collaborateurs n'était guère discutée. Depuis quelque temps, elle a subi des critiques assez sévères qui l'ont quelque peu discréditée.

Ravaut a insisté tout d'abord sur les erreurs de technique faciles à commettre, qui faussent la réaction ; témoin les discordances qui existent dans les résultats de divers opérateurs vis-à-vis d'un même échantillon de sérum, partagé entre eux. Il a insisté d'autre part sur les cas positifs qui peuvent être obtenus en dehors de la syphilis, telles certaines atteintes de paludisme, de lèpre, de trypanosomiase, etc. (Rubinstein, il est vrai, a montré que de tels faits ne pouvaient être considérés comme des erreurs de technique ou d'interprétation). Enfin Ravaut a montré qu'en certaines affections cutanées, le traitement par le novarsénobenzol pouvait déclencher pendant quelque temps une réaction positive.

En se plaçant au point de vue pratique, Ravaut arrive aux conclusions suivantes :

1° Une réaction de Wassermann ne vaut que par la signature qui l'accompagne.

2° Chez un syphilitique avéré, une réaction de Wassermann positive confirme la maladie. En revanche, la réaction peut être négative alors que le malade présente des accidents cutanés ou viscéraux en pleine activité; une réaction négative ne permet donc pas d'éliminer la syphilis.

3° Chez un malade soupçonné de syphilis, la réaction de Wassermann doit être considérée comme un symptôme d'appoint qui, d'accord avec d'autres manifestations, peut contribuer à établir le diagnostic de la syphilis.

4° Chez un malade qui ne présente ni antécédents, ni signes de syphilis, une réaction de Wassermann constamment positive indique de rechercher la syphilis. La réaction peut être positive en dehors de la syphilis; n'ayant pas de valeur absolue, elle ne saurait autoriser, à elle seule, le diagnostic de syphilis.

Réaction de fixation par la technique de Calmette et Massol. — On a vu plus haut que, dans la technique utilisée par Wassermann, on emploie des doses variables d'antigène en présence d'une quantité toujours uniforme d'alexine. Calmette et Massol ont montré que cette façon de procéder contribuait souvent à fausser la fixa-

tion spécifique, quand l'antigène et le sérum à expertiser « possèdent l'un et l'autre un pouvoir anticomplémentaire partiel qui s'additionne dans les tubes de réaction » (Breton et Duhot) ; il en résulte une grande difficulté pour fournir une appréciation précise de la quantité des anticorps contenus dans le sérum à étudier.

Calmette et Massol ont paré à ces inconvénients en utilisant une *dose fixe d'antigène* mise en présence de doses progressives d'alexine, comme pour le sérodiagnostic de la tuberculose (page 771).

Préparation de l'antigène. — L'antigène est de l'extrait de foie hérédo-syphilitique contenant un grand nombre de Tréponèmes. On broie le foie, puis on le dessèche dans le vide sulfurique ; on le laisse macérer pendant vingt jours dans 10 parties d'alcool à 95° pour une partie de résidu sec. Décanter et filtrer; répartir le liquide obtenu en flacons de 10 centimètres cubes, conservés à l'abri de la lumière.

Déterminer le pouvoir anticomplémentaire de l'extrait; mesurer le pouvoir antigène en présence d'un sérum à anticorps connu.

Préparation de l'anticorps. — C'est le sérum du sujet suspect de syphilis. Le chauffer à 56° pendant trente minutes.

Préparation du complément. — Sérum frais de cobaye dilué à 1/20.

Préparation du sérum hémolytique. — Comme pour la réaction de Bordet-Wassermann.

Dispositif de la réaction. — Pour chaque sérum on dispose :

1° Quatre tubes dans chacun desquels on verse $0^{cc},5$ du sérum à étudier.

On y ajoute une dose constante de $0^{cc},5$ d'antigène, puis $0^{cc},1$, $0^{cc},2$, $0^{cc},3$, $0^{cc},4$ d'alexine titrée, le tout étant complété à $2^{cc},5$, par de l'eau physiologique. Pour titrer l'alexine, on prend comme dose initiale le double de la dose minima permettant l'hémolyse en présence de sérum chauffé (Massol et Grysez).

2° Trois tubes témoins de sérum, en présence de $0^{cc},1$, $0^{cc},2$, $0^{cc},3$ d'alexine; compléter comme ci-dessus.

3° Deux tubes témoins d'antigène, en présence de $0^{cc},1$, $0^{cc},2$ d'alexine ; compléter comme ci-dessus.

Mise à l'étuve pendant une heure, puis addition de globules lavés de mouton (1 goutte) et de sérum hémolytique antimouton (10 doses minima) ; on complète à 3 centimètres cubes par de l'eau physiologique. Mise à l'étuve à 37° pendant trente minutes, puis à la température du laboratoire pendant douze heures.

	TUBES de diagnostic.				TUBES TÉMOINS				
					Sérum du malade.			Antigène.	
	1	2	3	4	1′	2′	3′	1″	2″
Sérum du sujet	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0
Antigène titré	0,3	0,3	0,3	0,3	0	0	0	0,3	0,3
Alexine titrée (0,1 étant la dose minima active)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,1	0,2	0,3	0,1	0 2
Eau physiologique	1,6	1,5	1,4	1,3	1,9	1,3	1,7	2,1	2,0
	Étuve à 37° pendant 1 heure.								
Sérum hémolytique (0,01 = dose minima active)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Hématies lavées	1 goutte dans chaque tube.								
Eau physiologique	Q. S. pour un volume total de 3 cc.								
	Étuve à 37° pendant 1/2 heure.								

La réaction est positive quand le volume d'alexine dévié par le mélange sérum-antigène est supérieur à la somme des volumes d'alexine déviés par le sérum et par l'antigène isolément (Calmette et Massol).

L'intensité de la réaction est mesurée par le nombre d'unités d'alexine fixées par le sérum à expertiser.

Le tableau suivant met en évidence les résultats qu'on peut être appelé à constater :

1° *Sérum non syphilitique.* — Dans les tubes 1 et 1″ ne contenant qu'une faible dose d'alexine, l'hémolyse est nulle (0) ou incomplète (*h*) ; dans tous les autres elle est complète (H).

2° *Sérum syphilitique.* — Absence totale d'hémolyse dans les tubes 1 ; puis, suivant le degré de la réaction, l'hémolyse est nulle ou incomplète dans les autres tubes de diagnostic ; elle est complète dans tous les tubes témoins 1′ 2′ 3′ ; elle est partielle dans les tubes 1″ (comme plus haut) complète dans tous les tubes 2″.

	TUBES DE DIAGNOSTIC				TUBES TÉMOINS				
	1	2	3	4	1′	2′	3′	1″	2″
Sérum non syphilitique.....	*h*	H	H	H	H	H	H	*h*	H
Sérum syphilitique fortement.....	0	0	0	0	H	H	H	*h*	H
Sérum syphilitique moyennement.	0	0	0	*h*	H	H	H	*h*	H
Sérum syphilitique légèrement....	0	0	*h*	H	H	H	H	*h*	H
Sérum syphilitique très légèrement.	0	*h*	H	H	H	H	H	*h*	H

Cette technique donne des résultats incomparablement supérieurs à ceux que donne la méthode type de Wassermann. En particulier elle a permis à Mathis et Labougle de déterminer nettement que, contrairement à ce que plusieurs auteurs ont avancé, la réaction est négative dans le paludisme, la lèpre, l'angine de Vincent.

Autres procédés. — Une série d'autres procédés ont été décrits pour obtenir plus rapidement un sérodiagnostic de la syphilis. Les uns sont dérivés directement de la réaction de Wassermann et ont pour but de la simplifier; les autres relèvent de propriétés biologiques diverses des sérums syphilitiques.

Procédés de simplification de la réaction de Wassermann. — Une foule d'auteurs se sont ingéniés en effet à obtenir une simplification de la méthode, notamment en utilisant comme alexine ou comme hémolysine celle que renferme le sérum du malade.

Procédé de Bauer. — Il est basé sur cette constatation que le sérum humain contient une hémolysine naturelle pour les hématies de mouton; d'après l'auteur, il ne serait dès lors pas nécessaire d'avoir recours à une hémolysine artificielle provenant du sang d'un animal préparé.

Procédé de Hecht. — Ce procédé est encore une simplification du procédé de Bauer; il utilise, en plus de ce dernier, le pouvoir alexique normal du sérum humain, qu'on emploie dès lors sans chauffage préalable et aussi frais que possible.

L'antigène est de l'extrait alcoolique de cœur de cobaye (2 à 5 p. 100 dilué dans de l'eau salée isotonique).

Pour la réaction, on prépare six tubes dans lesquels on verse :

Tube n° 1. 1 c.c. d'eau physiologique + 0cc,1 de sérum frais du malade.
— n° 2. 1 c.c. d'extrait + 0cc,1 de sérum du sujet.
— n° 3. 1 c.c. — + 0cc,2 — —
— n° 4. (Témoin) 1 c.c. d'extrait.
— n° 5. 1 c.c. d'extrait + 0cc,1 d'un sérum positif déjà titré.
— n° 6. 1 c.c. d'extrait + 0cc,1 d'un sérum négatif déjà éprouvé.

On porte le tout à l'étuve à 38° et on ajoute dans chaque tube 1 centimètre cube de sang de mouton à 5 p. 100.

Le résultat est positif quand, dans les tubes 2, 3 et 5, l'hémolyse est nulle ; négatif, quand l'hémolyse est complète dans les tubes 1, 4 et 6.

D'après Rubinstein, l'emploi exclusif de la réaction de Hecht donne des résultats qui peuvent varier suivant l'antigène et de nombreuses conditions d'ordre secondaire ; « elle ne peut d'ailleurs se suffire à elle-même, car il est un certain nombre de sérums dont le pouvoir hémolytique est nul et trop faible » ; puis elle donne fréquemment des réactions douteuses qui exigent un contrôle par d'autres méthodes.

Par ailleurs la réaction de Wassermann donne lieu à un nombre assez important de réactions partielles dont l'interprétation est peu aisée. Aussi Rubinstein préconise t-il l'emploi simultané et parallèle de ces deux réactions, celle de Hecht lui paraissant être un « auxiliaire indispensable » de la première, dans les conditions qu'il a précisées (1).

Procédé de Levaditi et Latapie. — Basé sur les mêmes principes. La réaction doit être effectuée au plus tard le lendemain de la récolte du sang ; le sérum *non chauffé* contient ainsi sûrement le complément. On verse dans les tubes l'eau salée (à 8 p. 1 000, stérilisée) à raison de 0cc,2 dans le premier tube, 0cc,4 dans le second et 0cc,3 dans le troisième. Puis on ajoute dans le premier tube 0,1 d'antigène titré et dans le second 0,2 du même antigène. Enfin on verse 0cc,1 de sérum du malade dans chacun des trois tubes; *agiter* et placer les tubes à l'étuve (37°). Après *une heure et demie* de séjour, on les retire et on ajoute à chacun d'eux 0cc,1 d'une émulsion de sang de mouton (5 centimètres cubes de sang pour 100 centimètres cubes d'eau salée isotonique) ; replacer les tubes à l'étuve ; on lit les résultats *lorsque l'hémolyse est complète dans le troisième tube témoin.*

SÉRUM.	EAU SALÉE.	ANTIGÈNE.	SÉRUM FRAIS DU MALADE.	Une heure et demie à 37°.	SANG DE MOUTON 5 : 100.	RÉSULTAT. HÉMOLYSE.
Positif.	0,2	0,1	0,1		0,1	0
	0,1	0,3	0,1		0,1	0
	0,3	—	0,1		0,1	Hémolyse. *Tube témoin.*
Négatif.	0,2	0,1	0,1		0,1	Hémolyse.
	0,1	0,2	0,1		0,1	Hémolyse.
	0,3	—	0,1		0,1	Hémolyse. *Tube témoin.*

Avec cette technique, dans la grande majorité des cas, l'expérience est nette ; l'hémolyse est nulle dans les tubes 1 et 2; dans le tube 3, l'hémolyse est complète. Le résultat est alors positif.

Toutefois, il arrive que le sang ne se dissout pas dans le premier tube : c'est que le sérum ne renferme pas assez de complément ou d'ambocepteur hémolytique pour les hématies du mouton.

On remédie à ces inconvénients de la façon suivante :

(1) *Presse médicale*, 7 juillet 1919.

1° On commence par supposer que le sérum est trop pauvre en ambocepteur (peut-être même complètement dépourvu). Dans ce cas, on se servira des *mêmes tubes*, et on ajoutera dans chacun d'eux 0cc,1 d'*ambocepteur lapin-mouton* préalablement titré. Les tubes seront placés de nouveau à 37°, et on lira le résultat après vingt à trente minutes. Si l'absence d'hémolyse est réellement due à l'absence ou à l'insuffisance de l'ambocepteur, le deuxième tube ne tardera pas à s'hémolyser. Le résultat sera *positif* ou *négatif*, suivant que dans les premiers tubes l'hémolyse sera *nulle* ou *complète*.

2° *Mais si le troisième tube témoin n'hémolyse pas, malgré l'adjonction de l'ambocepteur, c'est que, très probablement, le sérum du malade manque de complément.* Il faudra donc le *compléter* en ayant recours au complément de cobaye. On disposera l'expérience comme dans le tableau I, en ayant soin d'ajouter à chaque tube, en plus des ingrédients mentionnés dans ce tableau, *0cc,1 de complément de cobaye* (*sérum frais*) ***dilué au cinquième*** (une partie sérum + 4 parties eau salée). Avec cette modification, l'expérience doit fournir un résultat précis ; si elle ne réussit pas, c'est que le sérum contient des substances anti-hémolytiques, et que nul autre procédé, même le Wassermann type, ne pourra nous renseigner sur sa valeur, au point de vue du sérodiagnostic de la syphilis.

En général, la première modification fournit des indications précises dans plus de 90 p. 100 des cas, de sorte qu'on n'est obligé de recourir au complément de cobaye que 2 à 3 fois sur 100.

Procédé de Noguchi. — Noguchi emploie un système hémolytique antihumain (au lieu d'antimouton) ; le complément et l'ambocepteur hémolytique sont représentés par des papiers d'une surface déterminée, imbibés de chacune de ces substances, chaque carré de papier en contenant toujours une quantité fixe. Les globules sanguins sont ceux du malade.

En 1918, Noguchi a préconisé une deuxième méthode dans laquelle, supprimant encore le sérum de cobaye, il utilise le complément du sérum humain. Le sang du malade et du sérum antihumain sont les seuls éléments nécessaires à la réaction :

Chaque réaction comporte deux tubes dans lesquels on verse, dans l'un, 0cc,1 d'antigène et la solution physiologique à 9 p. 1.000 ; dans l'autre, le tube témoin, la solution saline seulement, de façon à avoir 1cc,3 (l'antigène utilisé par Noguchi est l'émulsion saline au dixième de la fraction, insoluble dans l'acétone, de lipoïde de tissus dissous dans l'alcool méthylique pur à raison de 3 p. 100). Porter une demi-heure au bain-marie à 37°, puis, dans chaque tube, ajouter 0cc,1 d'une suspension à 10 p. 100 de globules rouges lavés et 0cc,1 d'une dilution de l'ambocepteur antihumain égal à une unité hémolytique. Secouer les tubes, les porter encore au bain-marie à 37° pendant une demi-heure en les agitant encore à deux ou trois reprises. Laisser alors à la température de la chambre pendant une demi-heure avant de lire les résultats.

En cas d'hémolyse incomplète dans le tube témoin, ajouter une seconde unité d'ambocepteur et remettre à l'étuve ; si l'hémolyse ne se produit pas, ajouter alors 0cc,1 de sérum humain frais négatif. Les résultats de cette réaction seraient parallèles à ceux qu'on obtient avec la réaction de Wassermann.

Réactions de précipitation. — **Procédé de Porges.** — Porges mélange dans des tubes 0cc,2 du sérum à examiner avec 1 centimètre cube d'une émulsion de lécithine à 1 p. 100. On porte ce mélange pendant cinq heures

à l'étuve à 37°. Dans les cas positifs, il se forme, d'après l'auteur, un précipité débutant par la surface. La plupart des sérums syphilitiques donneraient un résultat positif ; cette opinion a été contredite par plusieurs auteurs.

En raison des différences qu'on observe suivant les divers échantillons de lécithine, Porges a proposé encore de remplacer cette dernière par le glycocholate de soude.

Procédé de Klaussner. — A 0cc,2 de sérum, Klaussner ajoute 0cc,7 d'eau distillée. Après quelques heures de séjour à la température ordinaire, un précipité se formerait si le sérum est syphilitique. Mais les résultats sont très inconstants.

Procédés de Bruck. — Trois procédés, dont deux à retenir :

1° A L'ACIDE NITRIQUE. — L'addition d'acide nitrique à un sérum normal produit un précipité qui se redissout quand on ajoute de l'eau distillée ; il persiste quand le sérum provient d'un syphilitique.

Pour effectuer la réaction : ajouter à 0cc,5 de sérum frais non chauffé 2 centimètres cubes d'eau distillée et 0cc,3 d'acide nitrique à 25 p. 100. Par agitation, rendre uniforme le précipité formé ; puis laisser déposer pendant dix minutes à la température de la chambre.

Ajouter 16 centimètres cubes d'eau distillée à 15°, mélanger en renversant à plusieurs reprises ; laisser reposer dix minutes et mélanger de nouveau. Si le sérum est syphilitique, un fin précipité blanc persiste ; s'il ne l'est pas, le milieu devient transparent.

Les résultats ne concordent pas toujours avec ceux de la réaction de Wassermann. Mlle Magot et Rubinstein n'ont trouvé une concordance que de 70 p. 100.

2° A L'ACIDE LACTIQUE. — Méthode basée sur l'action des acides organiques sur les globulines des sérums chauffés. A l'aide d'une solution d'acide lactique à 1 p. 1 000 on prépare des dilutions qu'on fait agir sur des sérums certainement positifs ; on choisit la plus faible donnant un précipité net avec le sérum syphilitique (0cc,2 de sérum chauffé + 2 centimètres cubes d'acide dilué). Dans les expériences de Bruck, la dilution était de 9 centimètres cubes d'acide lactique et 60 centimètres cubes d'eau distillée neutre.

Procédé de Sachs et Georgi. — Ce procédé utilise la propriété que possède la cholestérine (Sachs, Desmoulière) d'intensifier et de rendre régulière la floculation obtenue en mettant en présence des extraits d'organes et des sérums syphilitiques. Sachs et Georgi ont ainsi utilisé des extraits cholestérinés préparés comme suit :

Extrait de cœur de bœuf.....	100	cent. cubes.
Alcool à 96°.....	200	—
Cholestérine à 1 p. 100.....	13	—

Cet extrait est dilué au moment de l'emploi par parties égales d'eau physiologique ; on mélange et on ajoute à nouveau 4 volumes d'eau physiologique.

A 0cc,5 de l'émulsion opalescente, mais claire, ainsi obtenue on ajoute 1 centimètre cube du sérum à examiner, chauffé et dilué à 1 p. 100. Placer à l'étuve pendant deux heures, puis séjour de dix-huit à vingt heures à la température du laboratoire.

Si le sérum est syphilitique, un précipité se forme, qui se dépose ; si la

syphilis n'est pas en cause, le sérum reste opalescent, mais sans trace de précipité.

D'après Sachs et Georgi, dans 95 p. 100 des cas on obtient la concordance avec la réaction de Wassermann. Wollman a confirmé ces résultats; mais ce procédé ne permet pas d'apprécier l'intensité de la réaction.

Procédés de Meinicke. — D'après Meinicke, il se produirait, dans la réaction de Wassermann, une combinaison entre les globulines du sérum (au contact de l'émulsion d'organes) et les lipoïdes de l'extrait. Dès lors le précipité formé dans les sérums syphilitiques doit être, comme les lipoïdes, insoluble dans les solutions salines; celui des sérums normaux (globulines seules) doit être soluble en milieu salé. D'où deux méthodes :

1° Procédé a l'eau. — A 0cc,2 de sérum chauffé à 55° (une heure), ajouter 1cc,5 d'extrait d'organe dilué avec de l'eau distillée. Agiter et mettre à l'étuve. Après une heure, ajouter 2cc,5 d'eau distillée à 37°; mélanger, reporter à l'étuve (seize heures).

Les sérums négatifs précipitent; les sérums positifs sont opalescents, mais transparents.

2° Procédé au NaCl. — Diluer à 1/8, avec de l'eau distillée, de l'extrait alcoolique d'organe.

Dans deux tubes, verser 0cc,2 de sérum chauffé à 55° pendant quinze minutes; à l'un ajouter 0cc,8, à l'autre 1 centimètre cube d'extrait dilué.

Étuve pendant vingt à vingt-quatre heures : un précipité se forme dans les deux tubes. Agiter et ajouter dans chacun 1 centimètre cube de solution salée (entre 1,4 et 2,4 p. 100). Si le précipité persiste, le sérum est celui d'un syphilitique; il se montre à un degré plus ou moins marqué, qui permet d'apprécier l'intensité de la réaction.

Réactions de coagulation. — Nous ne retiendrons ici que le procédé de Vernes.

Procédé de Vernes. — La méthode est basée sur ce que les substances colloïdales provoquent la floculation des sérums en général, mais le rythme de la floculation diffère suivant le cas : on observe un déplacement, un décalage (Wollman) des zones de floculation suivant qu'il s'agit ou non d'un sérum syphilitique. Il est plus ou moins accusé avec les réactifs utilisés. Vernes a choisi le péréthynol : extrait de cœur de cheval, préparé comme suit :

Le cœur frais de cheval est haché et traité par l'alcool absolu pendant soixante minutes, puis desséché à 37°, et broyé. On épuise au Soxhlet 30 grammes de la poudre obtenue avec 250 grammes de perchlorure d'éthylène : nouvelle dessiccation à 37°. On épuise par 200 centimètres cubes d'alcool absolu. On filtre sur papier et on ramène au titre de 15 grammes d'extrait sec par litre. Cet extrait est dilué de telle façon que le degré d'opalescence obtenu corresponde à un numéro d'une échelle diaphanométrique. L'agent hémolytique est du sérum frais de porc.

Voici comment s'effectue la réaction :

Le sérum à examiner est chauffé à 55° pendant vingt minutes, puis distribué dans deux tubes (0cc,2 par litre). Dans le premier, on verse 0cc,8 de la suspension de péréthynol : dans le deuxième (témoin), 0cc,8 d'eau physiologique; on ajoute 0cc,8 de sérum de porc titré en présence de péréthynol.

Étuve à 37° : une heure quinze. Ajouter des hématies de mouton.

Étuve pendant vingt minutes, c'est-à-dire le temps nécessaire à l'hémolyse complète dans les tubes témoins. On note à l'aide d'une échelle colorimétrique la teinte du tube contenant le péréthynol.

Agglutination du Tréponème. — D'après Jeanselme et Touraine, le diagnostic de la syphilis pourrait être assuré par la recherche de l'agglutination, en opérant de la façon suivante :

On racle des plaques muqueuses riches en Tréponèmes. Le produit de raclage est placé en lame et lamelle dans le sérum à examiner. Les Tréponèmes sortent du tissu pour se répandre dans le sérum. Si ce sérum est syphilitique, les Tréponèmes présentent une mobilité anormale ; les mouvements deviennent convulsifs et les germes prennent des formes variées. Peu après, certaines s'incurvent et réunissent leurs extrémités ; puis l'agglutination se produit, les amas revêtant une disposition stellaire.

Faible à la période du chancre, cette agglutination deviendrait plus forte à la période secondaire, pour faiblir à nouveau à la période tertiaire.

Cuti-réaction.

Noguchi a récemment fait connaître un procédé de diagnostic, calqué sur la cuti-réaction à la tuberculine de Von Pirquet (Voy. p. 768); c'est la *luétine-réaction*, ou cuti-réaction obtenue à l'aide de cultures de Tréponèmes, tuées à 60° (luétine). On injecte par la voie dermique 7 centièmes de centimètre cube d'un mélange de Tréponèmes de diverses origines. Voici ce qu'on observe :

Chez les sujets *non syphilitiques*, vingt-quatre heures après la piqûre, apparaît un léger érythème qui disparaît en quarante-huit heures. Telle est la réaction *négative*.

Chez les *syphilitiques*, quand la réaction est *positive*, elle revêt trois aspects :

Forme papuleuse : papule rouge, indurée, surélevée, de 7 à 10 millimètres de diamètre, disparaissant en général en sept à dix jours, parfois deux à trois semaines.

Forme pustuleuse : tout d'abord une papule indurée se développe, puis, après quatre à cinq jours, une véritable pustule, accompagnée de prurit. Cette pustule se rompt, se recouvre d'une croûte écailleuse qui tombe ultérieurement, laissant au-dessous d'elle une petite cicatrice avec pigmentation durant plusieurs mois.

Forme torpide : l'élément papuleux, puis pustuleux, n'apparaît qu'au bout de deux à trois semaines après l'injection.

D'après les faits recueillis jusqu'alors, la luétine-réaction est absente lors des accidents primitifs et secondaires; elle est presque constante dans les « cas chroniques ou latents » et dans la syphilis héréditaire. Elle est inconstante dans la syphilis cérébro-spinale, le tabes et la paralysie générale; dans cette dernière, elle semble être négative si le processus syphilitique est en évolution.

Les résultats de cette réaction sont indépendants de ceux que donne la réaction de Wassermann. Elle peut manquer, alors que

cette dernière est positive, et inversement. D'autre part, sous l'influence du traitement, alors que la réaction de Wassermann diminue, la luétine-réaction persiste et même augmente.

Avec la *syphiline* (extrait de foie syphilitique), Nicolas et Favre auraient obtenu des réactions nettes dans les cas de syphilis avérée,

Lœper, Desbouis et Durieux ont employé, en intradermo-réaction. le *glycocholate de soude* (I à II gouttes d'une solution à un vingtième et à un cinquantième). A un cinquantième, des sujets non syphilitiques ne présentent aucune réaction. Chez les syphilitiques, on obtiendrait au point d'inoculation un érythème lenticulaire, ou un nodule saillant, gros comme un grain de millet ou une lentille.

ESSAIS DE VACCINATION.

Roux et Metchnikoff firent des essais de vaccination sur le chimpanzé et l'orang-outang à l'aide d'un virus ayant subi plusieurs passages sur le bonnet chinois, et dont ils pouvaient supposer l'atténuation. Ce virus, inoculé au chimpanzé, détermina de petits chancres qui ne furent suivis d'aucun accident secondaire. Un chimpanzé inoculé ultérieurement avec un virus humain resta réfractaire.

Les résultats de cette expérience étaient encourageants, mais des essais ultérieurs, répétés sur la même base, restèrent négatifs.

Les tentatives faites avec du virus chauffé à 48° pendant une demi-heure, avec des produits gommeux restèrent inefficaces.

ESSAIS DE SÉROTHÉRAPIE.

Plusieurs auteurs ont tenté d'obtenir un sérum antisyphilitique en injectant au cheval du sang (Neisser), du sérum (Finger et Landsteiner) de syphilitique. Ces essais demeurèrent infructueux.

Roux et Metchnikoff, utilisant le fait connu que les singes inférieurs contractent facilement le chancre et en guérissent en peu de temps, pensaient obtenir avec ces animaux un sérum plus actif. Ils inoculèrent à des macaques du virus syphilitique donnant lieu à la lésion initiale, puis, plus tard, sous la peau, du sang entier de syphilitique en pleine roséole; ils firent des essais thérapeutiques avec le sérum des singes ainsi traités. Voici les résultats obtenus :

1° Le mélange *in vitro* de virus et de sérum est quelquefois inoffensif;

2° Le sérum, en injection sous-cutanée, n'a présenté aucune action sur le virus déjà introduit dans l'organisme.

Tous les essais de sérothérapie n'ont donc abouti qu'à des insuccès.

CHAPITRE LXV

SPIROCHÈTE DU PIAN

(*Treponema pallidulum-Castellani*).

En 1905, Castellani décela l'existence d'un Spirochète sur les frottis de la sérosité provenant des lésions papillomateuses qui caractérisent le pian. Il le désigna tout d'abord sous le nom de *Sp. pertenuis*, puis de *Sp. pallidula*, en raison de sa ressemblance avec le Spirochète de la syphilis.

Morphologie. — Au point de vue morphologique, en effet, ces deux parasites se montrent très voisins, sinon identiques. C'est l'opinion exprimée par la plupart des auteurs qui les ont étudiés. Cependant d'après Mayer, *Sp. pallidula* serait plus fin et moins facilement colorable que *Tr. pallidum*. Prowazek estime que ses ondulations sont plus lâches et plus irrégulières et que ses extrémités se terminent souvent par une boucle.

Les recherches de Castellani et d'une foule d'auteurs (Wellman, Powell, Borne, Neisser, Baerman et Halberstädter, etc.) ont établi le rôle indiscutable de ce parasite dans la production du pian; Castellani l'a trouvé en effet constamment dans le chancre pianique, 70 fois sur 76 dans les éléments secondaires, moins souvent dans les papules ulcérées ; on le rencontre également dans la rate et les ganglions lymphatiques; il est absent dans la circulation et le liquide céphalo-rachidien.

Dans les coupes des lésions pianiques, il existe abondamment (Spronck, Schüffner, etc.).

Le parasite se colore de la même façon et par les mêmes procédés que celui de la syphilis.

Action pathogène expérimentale. — Le pian est inoculable expérimentalement à diverses espèces de singes. Neisser, Baerman et Halberstädter obtinrent des résultats positifs chez le gibbon, l'orang-outang, chez *M. cynomolgus*, *M. nemestrinus*, etc. Au bout de quinze à quatre-vingt-seize jours après l'inoculation, se développe le chancre pianique sous forme d'une ulcération papillomateuse,

irrégulière, recouverte d'une croûte épaisse ; on observe des récidives locales, mais, sauf chez l'ourang-outang, aucune manifestation secondaire. Dans les lésions observées, *Tr. pallidulum* peut être aisément mis en évidence.

Différenciation du Tr. pallidulum et du Tr. pallidum. — On a vu plus haut que les deux parasites ne se différencient que très difficilement l'un de l'autre par le seul aspect morphologique; ainsi a-t-on pu penser que leur nature était identique. On a cherché la solution du problème dans les résultats fournis par l'immunité et surtout l'immunité croisée.

Il résulte des travaux de Neisser, Castellani, etc., qu'une première inoculation de pian confère au singe une immunité plus ou moins définitive. De plus les singes syphilisés expérimentalement peuvent prendre le pian ; enfin les singes inoculés du pian peuvent prendre la syphilis. Ces deux infections seraient donc nettement différentes, ce qui entraîne une différenciation indiscutable entre les deux Spirochètes, si voisins cependant. Il est vrai que Levaditi et Nattan-Larrier, opérant dans des conditions d'expérimentation plus favorables, et attendant, plus que les auteurs précédents, que la syphilis ait donné un certain degré d'immunité, n'ont pas pu transmettre le pian aux singes syphilitiques. Ils admettent cependant les résultats positifs de syphilis expérimentale sur les animaux pianiques. Pour eux, s'il existe une différence appréciable et incontestable entre *Tr. pallidum* et *Tr. pallidulum*, les nuances ne sont pas assez tranchées pour qu'on puisse les séparer complètement ; il existerait entre eux une certaine parenté, et le pian se présenterait comme une variété atténuée de la syphilis.

CHAPITRE LXVI

SPIRILLE DE LA FIÈVRE RÉCURRENTE

En 1868, Obermeier, à Berlin, examinant le sang de sujets atteints de typhus récurrent, y découvrait un spirille, auquel il attribua un rôle spécifique dans l'étiologie de cette affection.

Cette découverte fut confirmée par de nombreux auteurs, qui

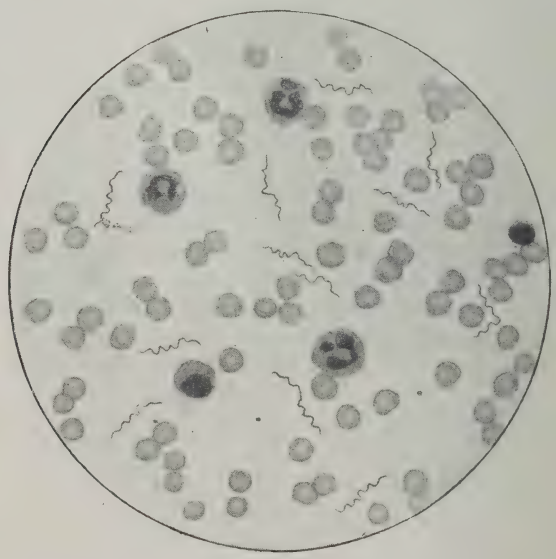


Fig. 311. — Spirilles d'Obermeier dans le sang.

observèrent des fièvres récurrentes en maintes régions du globe; en Europe (Russie, Allemagne, Turquie, Irlande); en Asie (Perse, Inde, Chine, Indo-Chine); en Afrique orientale, où Dutton, Todd, Koch lui donnèrent le nom de *tick fever*, car, au lieu d'être propagée par les insectes cuticoles comme dans les régions précédentes, elle l'était par l'intermédiaire des tiques; en Afrique septentrionale (Lafforgue,

en Tunisie ; Ed. Sergent et Foley, en Algérie) ; en Amérique (Etats-Unis, surtout).

Mais à la faveur des nombreuses recherches dont cette maladie fut l'objet on décrivit des différences entre les parasites observés, différences minimes, il est vrai, qui n'arrivèrent pas à en faire des espèces distinctes, mais des races d'une seule et même espèce.

On a ainsi distingué : *Spirillum Obermeieri* (virus russe) ; *Spirillum Carteri* (virus de Bombay) ; *Spirillum de la tick-fever* (virus de Koch, de Dutton, etc.) ; *Spirillum Novyi* (virus de New-York) ; *Spirillum du Tonkin* (Mathis et Léger) ; *Spirillum berbera* (virus d'Algérie, Sergent et Foley).

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Les divers échantillons de spirilles observés sont des filaments délicats, à extrémités effilées, spiralés, présentant entre quatre et quinze spires. Ils sont longs de 8 à 10 μ, sur environ 0 μ,25 à 0 μ,30 de large. Les formes plus longues qui ont été décrites paraissent résulter de l'accolement bout à bout de plusieurs parasites. La longueur d'un tour de spire varie de 2 μ,5 à 3 μ.

Dans le sang examiné à l'*état frais*, ces spirilles sont très mobiles et repoussent les globules rouges; ils présentent des mouvements divers: mouvements de translation, mouvements de vrille, quand les tours de spires sont resserrés, mouvements d'ondulation et de flexion quand ils sont relâchés, ce qui se produit, d'après Ed. Sergent et Foley, vers la fin des accès fébriles, alors que les parasites semblent subir un stade dégénératif. Ces divers mouvements peuvent s'observer, entre lame et lamelle, pendant plus de vingt-quatre heures à une température moyenne de 14° à 15°.

La *coloration* permet d'étudier davantage leur morphologie et les figures de division.

Quand ils ne sont pas altérés, leur substance est uniforme. Vers la fin des accès, ils présentent parfois un aspect granuleux ou vacuolaire.

D'après Metchnikoff et Koch, ils se divisent transversalement. Quand ils deviennent abondants dans le sang du malade, on les voit *s'agglutiner* (fig. 312). Ils s'enchevêtrent, s'entortillent par deux ou trois individus; parfois même il s'agit d'amas, de véritables paquets.

Deux spirilles peuvent se présenter accolés, les spires de l'un s'enclavant dans les spires de l'autre, et faire croire ainsi à une division longitudinale qui n'existe pas.

Carlinski a décrit des cils vibratiles siégeant aux extrémités, sous

forme de bouquets de deux cils ; Zettnow a vu, sur le *Spirillum Duttoni*, des cils insérés sur toute sa surface. D'après Novy et Knapp, on ne percevrait sur le *Spirillum Obermeieri* qu'un seul cil et à une seule extrémité. On n'est pas d'accord, actuellement, sur l'existence de ces cils.

Les spirilles d'Obermeier ne sont perceptibles que pendant les accès fébriles ; pendant l'apyrexie qui sépare deux de ces derniers, ils disparaissent. Cependant Edm. Sergent et Foley ont constaté que, même pendant cette période, le sang possédait un pouvoir infectant vis-à-vis du singe. Le virus existerait donc, mais subirait alors une évolution à caractère périodique de huit à dix jours, au cours de laquelle il prendrait une forme plus petite.

Coloration. — Elle peut s'opérer sur les lames de sang étalé et sur les coupes.

Lames de sang étalé. — Les spirilles de la fièvre récurrente se colorent difficilement. On emploie avec avantage le violet aniliné d'Ehrlich, mais en ayant soin de dissoudre préalablement l'hémoglobine. Pour cela : 1° verser sur la préparation de l'eau acétisée à 5 p. 100 ; laisser en contact pendant trente secondes ; 2° faire agir pendant quelques secondes des vapeurs d'ammoniaque et laver à l'eau distillée.

Les spirilles sont colorés en violet, nettement visibles, les globules blancs de même ; les hématies sont incolores.

La coloration par le liquide de Giemsa (Voy. *Paludisme et syphilis*) donne de très bonnes préparations.

Coupes. — Nikirof a indiqué un bon procédé de coloration du spirille dans les coupes (de préférence les coupes de rate).

On trempe les coupes pendant vingt-quatre heures dans le colorant suivant :

Solution aqueuse de bleu de méthylène.....	10 cent. cubes.
— alcoolique de tropéoline à 1 p. 100..	1 cent. cube.
— de potasse à 1 p. 10.....	IV gouttes.
Eau distillée.....	10 cent. cubes.

Laver à l'eau, puis à l'alcool-éther ; xylol, puis monter.

CULTURES.

La culture des spirilles de la fièvre récurrente n'a pu être obtenue que dans certaines conditions.

Signalons les tentatives de Norris, Pappenheimer et Flourney : ils ensemencèrent du sang de rat infecté dans du sang citraté humain

ou de rat; après vingt-quatre heures les spirilles s'étaient multipliés; mais, après la deuxième génération, les repiquages restèrent négatifs.

Les essais les plus nets sont ceux de Levaditi; dans des sacs de collodion remplis de sang de macaque chauffé à 70°, il ensemence le virus de la *tick-fever*; il insère le sac dans le péritoine d'un lapin; les cultures sont abondantes. Ces faits furent confirmés par Novy, qui, avec le virus indien, a pu obtenir vingt générations; les cultures étaient virulentes pour le rat.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Les propriétés biologiques sont mal connues. On ne possède de renseignements que sur la façon dont se comportent les divers spirilles vis-à-vis du sérum d'animaux immunisés.

Séroréaction. — Mis en présence du sérum d'un animal vacciné contre un spirille, ce spirille, examiné dans un mélange *in vitro*, subit l'agglutination (fig. 312). *In vivo*, dans le péritoine, il subit une fonte granuleuse; on réalise ainsi un véritable phénomène de Pfeiffer.

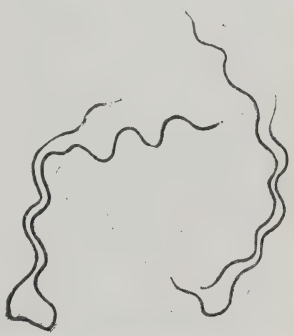


Fig. 312. — Spirilles agglutinés (d'après Ed. Sergent et Foley).

Edm. Sergent, Foley, Gillot et Béguet ont suivi presque quotidiennement les variations de ces propriétés aux différentes périodes de la maladie. Ils ont noté que :

1° Pendant l'accès (premier ou deuxième), le pouvoir agglutinant et spirillicide du sérum (recherché *in vitro*) est nul.

2° Pendant la première apyrexie (entre le premier et le deuxième accès), les pouvoirs agglutinant et spirillicide apparaissent, mais le pouvoir spirillicide est moins fort pendant les derniers jours de l'apyrexie que dans les premiers.

3° Après le deuxième accès, ils sont plus marqués qu'après le premier.

4° Enfin le pouvoir agglutinant peut être indépendant du pouvoir spirillicide.

D'après Uhlenhuth et Händel, ces réactions sont spécifiques; en effet, elles ne sont positives que si le spirille employé pour l'expérience est le même que celu qui a servi d'antigène pour la vaccina-

tion de l'animal ; un spirille de race différente donne une réaction négative.

Ce sont ces constatations qui ont surtout contribué à opérer les différenciations entre les diverses races de spirilles.

Sergent et Foley ont constaté les mêmes différences entre le virus européen (russe) et le virus sud-oranais; en effet: le virus russe est agglutiné, puis détruit en présence de sérum d'animaux immunisés contre ce même virus, mais nullement par le sérum d'animaux immunisés contre le virus sud-oranais, et réciproquement.

Ils ont pu conclure que le spirille sud-oranais était différent du spirille européen, et l'ont désigné sous le nom de *Sp. berbera*.

Immunité croisée. — Ces différences individuelles s'observent encore, mais moins nettement, dans les expériences d'immunité croisée.

Breinl a montré en effet que des rats immunisés contre le spirille d'Obermeier étaient néanmoins sensibles, dans la moitié des cas, au spirille africain de Dutton. D'après Strong, des rats vaccinés contre les spirilles d'Obermeier et le spirille de Novy sont réfractaires au spirille de Carter (Bombay), mais sont infectables par celui de Dutton.

Frænkel signale l'absence d'immunité croisée entre deux échantillons de spirilles de la *tick-fever*, l'un isolé par Koch, l'autre par Dutton. Ed. Sergent et Foley ont fait les mêmes constatations pour les virus sud-oranais et russe.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

Il est facile de conférer expérimentalement la fièvre récurrente au singe, au rat et à la souris; mais il existe, à cet égard, quelques différences de réceptivité suivant l'origine du virus utilisé. Le lapin et le cobaye sont presque réfractaires.

Chez le singe, le cercopithèque notamment, qui est le plus réceptif, l'inoculation *sous-cutanée* ou *intrapéritonéale* du sang d'un homme atteint de fièvre récurrente provoque, après trente-six heures à cinq jours d'incubation, l'éclosion d'accidents fébriles infectieux, en tout comparables à ceux que l'on observe en clinique humaine. Certains de ces animaux présentent le cycle évolutif habituel de la maladie humaine, mais la rechute n'est pas constante ; la guérison est la règle.

Mais, pour que l'inoculation soit positive, le prélèvement du sang chez l'homme doit être effectué au cours des accès fébriles, pendant lesquels le spirille existe dans le sang circulant. Pendant les périodes

apyrétiques, le spirille disparaît du sang pour se réfugier dans la rate ; le sang n'est plus virulent.

Des phénomènes identiques s'observent, d'ailleurs, chez le singe ; les spirilles fourmillent dans le sang pendant l'accès ; quand l'accès rétrocède, ils sont très abondants dans la rate, où ils sont inclus dans les leucocytes ; dans ces phagocytes, les spirilles prennent un aspect granuleux et finissent par être digérés complètement (Metchnikoff, Soudakewich, etc.). La rate joue donc un rôle défensif indéniable dans la pathogénie de la fièvre récurrente : d'ailleurs, chez des singes dératés, Soudakewitch a montré l'absence de phagocytose, l'abondance énorme des spirilles finissant par entraîner la mort.

Ed. Sergent et Foley ont pu encore conférer la fièvre récurrente au singe en instillant *au niveau de la conjonctive* un produit spirillifère (pou infecté et broyé).

Chez la souris, l'injection intrapéritonéale du sang humain infecté détermine une fièvre récurrente classique, présentant même deux à trois rechutes, mais elle guérit. Tous les virus ne sont pas capables d'infecter directement la souris ; avec certaines races, comme *Spirillum Obermeieri*, il faut un passage préalable sur le singe pour obtenir l'infection.

Le *rat blanc* présente les mêmes phénomènes, mais ils évoluent plus rapidement sans présenter de rechutes, ou bien la rechute est tardive et éphémère.

Rappelons que, suivant le virus employé et son origine, on observe des différences de virulence parfois importantes ; en général, c'est le virus de la *tick-fever* qui paraît le plus virulent pour l'animal.

MODE D'INFECTION. ROLE DES ECTOPARASITES.

On admet actuellement que la fièvre récurrente se propage par les piqûres d'insectes cuticoles.

Ticktin avait observé que des *punaises* (*Acanthi lectularia*) recueillies dans le lit de malades atteints de typhus récurrent étaient gorgées de sang véhiculant le spirille d'Obermeier ; placées sur des singes, elles ne tardaient pas à leur inoculer, par leurs piqûres, une fièvre récurrente expérimentale. Des punaises témoins prises dans des milieux non infectés étaient indemnes de spirilles, et leur piqûre était inoffensive.

De nombreux auteurs (Karlinski Breinl, Todd, Mathis, Klodnitzky, Nuttal, Schellack, etc.) ont repris ces expériences, dont les résultats ont été positifs ou négatifs, suivant les conditions dans lesquelles les recherches ont été poursuivies.

En 1907, Mackie, sans vouloir diminuer le rôle de véhicule attribué à la punaise, a surtout incriminé le *pou* (*Pediculus vestimenti*) dans la transmission du spirille. A Nasik (Inde), il a recueilli dans un pensionnat, où sévissait la fièvre récurrente, 400 poux qu'il a disséqués : 44 étaient infectés. Il n'arriva cependant pas à contaminer des singes piqués par ces insectes.

En 1908, Edm. Sergent et Foley réalisèrent les premiers la transmission expérimentale du typhus récurrent par l'intermédiaire de *Pediculus vestimenti* : un macaque inoculé sous la peau avec le corps broyé d'un seul pou présente, après huit jours d'incubation, des spirilles dans son sang ; il succombe trois jours plus tard, le nombre des germes n'ayant pas cessé d'augmenter jusqu'à la mort. Ils constatèrent en outre que ni les punaises, ni les argas traités de la même façon, n'étaient capables de transmettre l'infection.

Edm. Sergent et Foley réussirent encore à conférer la spirillose à deux sujets isolés dans de bonnes conditions, et qu'ils avaient enveloppés d'une couverture provenant d'un sujet atteint de typhus récurrent et véhiculant des poux ayant piqué ce dernier.

En 1913, Ch. Nicolle, Blaizot et Conseil précisèrent le rôle vecteur du pou ; ils démontrèrent que la piqûre de cet insecte est inefficace, car les spirilles, localisés à la cavité lacunaire, n'envahissent pas l'appareil buccal piqueur ni ses dépendances. C'est, dans les conditions naturelles, à la suite de l'écrasement des poux survenant à la faveur des démangeaisons et des grattages, que les spirilles de la cavité lacunaire sont mis en liberté, souillent les ongles, puis les excoriations cutanées ; ou bien ils sont déposés sur la conjonctive ; comme l'ont démontré Ch. Nicolle, puis Sergent et Foley, le produit de broyage de poux infectés, déposé sur la conjonctive de singes sains, détermine chez eux l'apparition de spirilles dans le sang et la fièvre récurrente expérimentale. C'est chez l'homme, d'ailleurs, que Ch. Nicolle réalisa cette expérience.

Les mêmes auteurs ont complété leurs recherches par l'observation de l'évolution du spirille chez le pou infecté. Quand le pou vient de sucer le sang d'un sujet atteint de typhus récurrent, les spirilles qu'il contient présentent rapidement un ralentissement de leurs mouvements ; au bout d'une à deux heures ils sont immobiles ; ils disparaissent vers la cinquième ou sixième heure. Les jours suivants, on continue à noter leur absence ; ils reparaissent sous forme de spirilles très fins, vers le huitième jour, mais le plus souvent vers le douzième jour où, en prenant leur aspect adulte, ils sont alors très abondants. Après le dix-neuvième jour, ils disparaissent à nouveau.

Ch. Nicolle et Lebailly, en 1917, eurent la curiosité de suivre sur des coupes de pou, imprégnées au nitrate d'argent, les divers stades d'évolution des spirilles.

Une heure après un repas infectant, les coupes leur ont montré de nombreux parasites dans toute l'étendue de la cavité digestive, mais se réunissant en amas au centre de la lumière du tube digestif. De plus, au niveau de l'estomac et des diverticules stomacaux de la région œsophagienne, ils s'orientent vers les cellules du revêtement épithélial de ces organes ; certains sont perceptibles dans leurs interstices ou même dans les cellules, embrassant le noyau de celles-ci dans leur concavité.

Six heures après, même aspect; à noter que les cellules de l'intestin moyen et postérieur n'en contiennent jamais.

A la quarantième heure, les spirochètes ont partout disparu ; ils demeurent invisibles jusqu'au sixième jour.

Le sixième jour, des spirilles nouveaux apparaissent, mais siégeant exclusivement dans les espaces sanguins baignant les organes; ils sont particulièrement abondants dans les pattes, et surtout au niveau des interlignes articulaires ; on les perçoit aussi dans les espaces lacunaires des antennes.

Il semble donc que ce soit dans les cellules de l'intestin antérieur que se transforment les parasites ; mais Nicolle et Lebailly n'ont pu suivre leurs modifications, ni saisir le passage des parasites nouveaux des cellules digestives dans les lacunes circulatoires. Leur abondance dans les pattes du pou permet de comprendre comment le moindre traumatisme qui les brise peut extérioriser les spirilles qui se répandent alors sur la peau, et comment l'inoculation peut s'effectuer.

D'après Edm. Sergent et Foley, pendant l'intervalle marqué par la disparition des spirilles ou leur invisibilité, ces derniers n'en existent pas moins, car, à cette période, le pou est infectant; ils estiment que le germe se montre alors sous une forme très petite, virulente néanmoins, analogue, sans doute, à celle dont ils supposent l'existence dans les intervalles d'apyrexie chez l'homme. Cette virulence s'accuse davantage à la phase qui précède leur réapparition, et dans les premiers jours de celle-ci.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE.

Le diagnostic bactériologique de la fièvre récurrente s'effectue par deux procédés :

A. **Recherche directe du spirille.** — 1° Prélever *pendant un*

accès fébrile une gouttelette de sang par les procédés usuels, par piqûre d'un doigt ou du lobule de l'oreille.

a. Examiner entre lame et lamelle, à l'état frais. On constate l'existence de spirilles avec leurs caractères décrits plus haut et leur mobilité particulière.

b. Étaler sur lame une autre goutte de sang. Fixer par l'alcool-éther, colorer par le violet aniliné d'Ehrlich ou le Giemsa.

2° Sur le cadavre, prélever des petits morceaux de rate, fixer par l'alcool. Colorer les coupes par le procédé de Nikirof (Voy. p. 882).

B. **Séroréaction**. — Rechercher le pouvoir agglutinant du sérum du malade vis-à-vis d'un virus homologue. Cette épreuve n'a lieu d'être appliquée que pendant l'apyrexie intercalaire entre deux accès ou pendant la convalescence, à des phases par conséquent où l'examen direct du sang ne fait constater aucun spirille. Se rappeler les différences habituelles du pouvoir agglutinant du sérum suivant le moment de l'apyrexie.

IMMUNITÉ. — SÉROTHÉRAPIE.

Chez l'homme, une première atteinte de fièvre récurrente confère l'immunité. D'après Sergent et Foley, l'immunité ainsi acquise ne persiste pas au delà de quelques années; mais les récidives, même lointaines, ne comportent le plus souvent qu'un seul accès.

Chez le singe, l'immunité est plus réduite; elle persiste au moins quatre mois, mais le pouvoir spirillicide du sérum a disparu.

Si l'atteinte expérimentale a été bénigne, l'immunité n'existe presque plus après quatre mois, et ne se manifeste que par l'atténuation de l'infection lors de la récidive.

Les recherches de Gabritchewsky, de Novy et Knapp ont montré que le sérum d'animaux guéris et vaccinés était doué de *propriétés agglutinantes et bactéricides.*

Il possède un certain *pouvoir préventif.* D'après Novy et Knapp, le sérum d'un rat guéri, injecté préventivement à un rat sain qu'on inocule ensuite avec du virus récurrent, n'est pas préservé de l'infection, mais la période d'incubation est prolongée. Si, cependant, l'animal est hypervacciné par des injections multiples dans le péritoine, son sérum protège le rat; il est pourvu, de plus, de *propriétés curatives* manifestes; dans le sang de rats déjà infectés, l'injection de sérum amène, en une heure, la disparition complète des spirilles.

Gabritchewsky avait d'ailleurs observé antérieurement une défervescence brusque chez un singe traité par l'injection de sérum d'un autre singe, guéri d'une atteinte expérimentale.

CHAPITRE LXVII

SPIROCHÆTA ICTEROHEMORRAGIÆ

On connaissait depuis longtemps l'existence d'un ictère se caractérisant par la fréquence des hémorragies et des rechutes, mais qui restait confondu dans le groupe assez imprécis des ictères infectieux. Des études bactériologiques nombreuses n'étaient jamais parvenues à dissocier ces derniers. En 1914, cependant, deux savants japonais, Inada et Ido, arrivèrent à déterminer la nature étiologique de cet ictère, que l'on désignait jusqu'alors sous le nom de maladie de Mathieu-Weill.

Inada et Ido, en effet, constatèrent dans le foie d'un cobaye inoculé avec le sang d'un sujet atteint de cette affection, la présence d'un spirochète auquel leurs recherches leur permirent d'attribuer un rôle spécifique. Ils le dénommèrent : *Spirochæta hemorragiæ*, et désignèrent l'infection dont il était responsable sous le nom de *Spirochétose ictéro-hémorragique*. Peu de temps après, Nishida constata ce parasite dans le sang d'un malade porteur de cette maladie.

Depuis lors, les multiples travaux des auteurs précédents auxquels firent suite, au Japon, ceux de Hoki, Kanetto, Yto, Matzuzaki, confirmèrent et complétèrent ces notions premières, issues des recherches nippones, n'en déplaise aux auteurs allemands qui prétendirent s'en attribuer la découverte.

Ce spirochète, différent des autres germes similaires connus, fut mis en évidence sur le territoire belge pendant la guerre par A. Stokes et J.-A. Ryle, puis en France par L. Martin et A. Pettit, qui démontrèrent l'identité des parasites évoluant sur le sol japonais et sur le sol français, et vinrent apporter à l'étude biologique de ce germe une contribution des plus importantes. Ils furent suivis dans cette voie par un certain nombre d'auteurs, Costa et J. Troisier, Garnier et Reilly, Favre et Fiessinger, etc., qui, par leurs constatations multiples, enrichirent nos connaissances à ce sujet de données intéressantes concernant l'action pathogène de ce germe, dont la spécificité est devenue indiscutable.

MORPHOLOGIE.

Spirochæta icterohemorragiæ doit, au point de vue morphologique, être étudié à l'ultramicroscope qui permet de l'observer à l'état vivant, et dans les frottis.

A l'ultramicroscope. — Seul procédé capable de bien définir la structure de ce parasite à l'état vivant; le microscope seul est impuissant à donner d'utiles renseignements à cet égard.

A l'ultramicroscope, ce spirochète se montre sous la forme d'un filament assez trapu, rigide, comme teinté en bleu très pâle. Suivant la comparaison de L. Martin et A. Pettit, il ressemble à un « ressort à boudin très fin et très serré, dont la longueur serait habituellement de 6 à 9 μ, ses dimensions extrêmes étant comprises entre 3, 20, 30 et exceptionnellement 40 μ. L'hélice qu'il dessine offre une, deux, trois ondulations ou sinuosités, et ses extrémités sont le plus souvent recourbées ». Les spires se caractérisent par leur finesse et la petitesse du pas: « pour un spécimen de taille moyenne (soit 9 μ), on compte une vingtaine de spires, séparées approximativement les unes des autres par un intervalle de 0 μ, 5. »

En réalité, l'hélice est parfois difficile à percevoir; elle peut ne se rencontrer que sous l'aspect d'une série de granulations placées bout à bout. L'ultramicroscope ne met pas en évidence les cils vibratiles que font voir d'autres procédés (Voy. p. 891).

Ce spirochète est généralement extracellulaire ; il reste longtemps immobile à la même place; quand il se meut, c'est lentement; il présente alors « des *mouvements vermiculaires* ou une sorte de rotation sur place ». Ces mouvements sont totalement différents des brusques déplacements dont le genre *Treponema* est l'objet. Le parasite s'écarte donc nettement des tréponèmes.

Il est facile à différencier des « faux spirilles » que l'on rencontre au cours des dissociations de foie frais, de même aussi dans les urines sanglantes. Ces derniers n'ont pas de mouvements propres ; ils sont tirebouchonnés irrégulièrement; pas d'hélice à proprement parler ; d'ailleurs, lors de l'examen des frottis nitratés, ils ne sont pas visibles.

Frottis colorés. — Toutes les colorations en usage pour l'étude des protozoaires peuvent être utilisées pour l'étude de *Sp. icterohemorragiæ*: bleu à l'argent (Laveran-Borrel), panchrome de Laveran ; biéosinate de Tribondeau, coloration de Giemsa, de Leishman.

E. Renaux et Wilmaers ont obtenu des figures démonstratives par une coloration simple au bleu de toluidine ou au bleu de méthylène, ou à la fuchsine. Dans ce but : les frottis une fois secs, les

plonger dans l'alcool absolu pendant trente à soixante secondes, les flamber sans avoir égoutté. Recouvrir la préparation d'une solution aqueuse de tanin à 5 p. 100; chauffer jusqu'à émission de vapeurs (maintenir celles-ci pendant trente secondes). Laver, puis, sans sécher, colorer à l'aide d'un des colorants précédents. Chauffer à nouveau jusqu'à l'apparition de vapeurs (trente secondes); laver à l'eau distillée et sécher.

Sur les frottis colorés, *Sp. icterohemorragiæ* se montre sous l'aspect de filaments réguliers, ténus et ondulés; ils sont isolés ou enchevêtrés les uns dans les autres; les extrémités sont effilées et généralement incurvées; la courbure peut n'être que terminale, ou

Fig. 313. — Quelques aspects du spirochète ictéro-hémorragique.

A, coloration par l'albuminate d'argent; B, cils terminés par des sphérules (L. Martin et A. Pettit).

bien le parasite présente une inflexion générale qui lui fait dessiner un C ou un S. Enfin on note la présence de spires dont l'aspect et le nombre varient sans doute suivant le fixateur utilisé. Inada et Ido décrivent 2 à 3 grandes ondulations ou 4 à 5 petites. Legroux, L. Martin et Pettit en ont observé un plus grand nombre, soit avec le panchrome, soit à l'aide de l'albuminate d'argent.

Enfin, les méthodes de Van Ermenghem et surtout de Löffler permettent de percevoir nettement la présence de *cils vibratiles*. D'après L. Martin, A. Pettit et Vaudremer, le parasite présente des alternances de coloration correspondant aux spires notées à l'ultramicroscope; il se termine par des extrémités renflées, sortes de *sphérules* (fig. 313) où viennent s'implanter deux flagelles de dimensions inégales.

Frottis nitratés. — Les frottis nitratés par les méthodes de Ravaut-Ponselle ou de Fontana-Tribondeau conviennent fort bien pour la recherche de *Sp. icterohemorragiæ*. Avec ces procédés, le parasite montre des spires assez nettes, et des cils se terminant parfois par des sphérules.

Coupes de tissus nitratés. — Dans les coupes des tissus préalablements nitratés, les spirochètes « apparaissent avec une abondance que ne laissent souvent soupçonner ni l'observation des frottis, ni même l'examen ultramicroscopique » (L. Martin et A. Pettit); mais l'aspect de ces parasites se trouve alors modifié; ils prennent la forme d'un « bâtonnet empâté, courtaud, à peine spiralé, dans lequel presque rien ne rappelle plus l'élégante hélice qui

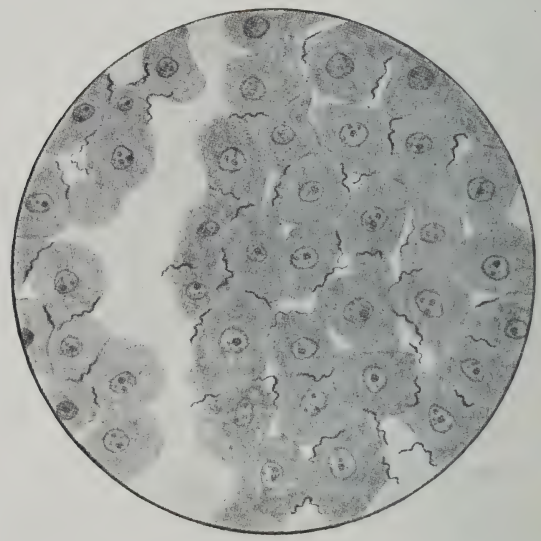


Fig. 314. — Spirochète ictéro-hémorragique dans le foie du cobaye (d'après une préparation de A. Pettit).

caractérise le *Sp. icterohemorragiæ* »; ils s'épaississent, et l'absence de spires, parfois constatée, leur donne la forme d'un « grand fragment de vermicelle ». Les cils et les sphérules ne sont pas perceptibles.

La nitratation s'obtient soit par les procédés connus, soit par le procédé de Manouélian :

Des fragments d'organes de 1 millimètre d'épaisseur sont fixés pendant une à deux heures dans le formol à 10 p. 100, ou le formol-alcool (formol, 10 volumes ; alcool à 90°, 90 volumes) ou l'alcool à 96°. Laver à trois reprises et à dix minutes d'intervalle dans l'alcool à 90°. Mettre les fragments dans un flacon à large goulot (contenance : 60 à 100 centimètres cubes)

rempli à moitié d'eau distillée (ils tombent au fond au bout de quelques minutes). Renouveler l'eau distillée.

Imprégner en versant dans le flacon une solution de nitrate d'argent à 1 p. 100, dont la température ne doit pas dépasser celle du laboratoire ; porter le tout à l'étuve à 56° et l'y laisser séjourner de quarante à soixante minutes.

Retirer le flacon de l'étuve ; saisir les pièces avec une pince en acier recouverte de paraffine, et laisser tomber les pièces dans le mélange suivant, fraîchement préparé (réducteur de Van Ermenghem) :

Acide gallique	5	grammes.
Tanin	3	—
Acétate de soude	10	—
Eau distillée	350	—

Au bout de trente minutes, la réduction est effectuée.

Inclure alors dans la paraffine par la technique habituelle (deux heures suffisent).

Refroidir le bloc de paraffine sous un jet continu d'eau fraîche pendant dix minutes environ ; on peut immédiatement pratiquer les coupes.

Si l'on veut obtenir des coupes colorées, employer l'un des colorants suivants : Giemsa, bleu de toluidine, rouge neutre-bleu de méthyle (Manouélian[1]).

Pour cette dernière coloration, traiter les coupes pendant deux minutes par du bleu de méthyle, en solution aqueuse à 1 p. 100 ; laver rapidement à l'eau ; colorer deux minutes par une solution aqueuse saturée de rouge neutre étendue de son volume d'eau ; différencier à l'alcool absolu auquel on peut ajouter de l'essence de bergamote ou de girofle. Xylol. Monter au baume.

Aspect dans les cultures. — Dans les cultures, *Sp. icterohemorragiæ* se montre encore sous la forme de filaments finement spiralés dont l'activité et la mobilité sont plus marquées que dans l'organisme infecté. D'après L. Martin et A. Pettit, l'aspect hélicoïdal s'observe déjà chez les éléments jeunes.

Outre cette *forme spiralée*, on observe, au fur et à mesure des progrès de la culture, des formes un peu différentes :

1° Des *formes longues*, de dimensions doubles des formes habituelles, présentant parfois en leur milieu l'image d'une sphère réfringente. L. Martin et Pettit ont observé la division transversale du parasite.

2° Des *amas irrégulièrement sphériques*, constitués par une foule de spirochètes enchevêtrés, confondus en une masse compacte d'où émergent, à la périphérie, des spirochètes partiellement libres et doués de mouvements très actifs.

3° Dans les cultures âgées, à ces éléments s'en ajoutent d'autres dont les spires sont relâchées et ressemblent à une « étroite bande

de papier qu'on aurait frisée au couteau », formes de dégénérescence d'après L. Martin et A. Pettit.

4° Enfin, avant l'apparition des formes typiques et après leur disparition, on observe des corpuscules arrondis, des dimensions d'un grain de Staphylocoque, corpuscules globoïdes qui, d'après Reiter et Ramme, seraient peut-être des spores.

CULTURES.

Sp. icterohemorragiæ peut cultiver dans certains milieux artificiels, mais à certaines conditions :

1° Il cultive aux températures comprises entre 10 et 37°. Au delà de 37°, il pousse difficilement ; à 42°, il ne pousse plus. D'après Noguchi, la température optima est comprise entre 30 et 37°. Pour L. Martin et A. Pettit, c'est à 29 et 30° que la pullulation est la plus régulière.

2° La réaction du milieu doit être, d'après Noguchi, faiblement alcaline ; l'alcalinité doit se rapprocher de celle du sérum sanguin ; une acidité, même légère, est contraire au développement microbien.

Noguchi prétend que *Sp. icterohemorragiæ* est un aérobie strict, opinion que ne partagent pas tous les auteurs. L. Martin et A. Pettit font justement remarquer que sa multiplication sous une couche d'huile de vaseline n'est pas en sa faveur.

Milieux de culture. — Les premiers essais sont dus à Inada et Ito qui, en 1915, purent conserver vivant le spirochète pendant treize et dix-sept jours ; quelques mois après ils le cultivèrent en série (cinq générations) sur le milieu de Noguchi (rein de cobaye au lieu de rein de lapin), sous couche de vaseline. Plus tard des essais furent positifs avec l'agar ou la gélatine au sang, avec le sérum humain ou bovin dilué d'une égale quantité d'eau distillée, avec le liquide ascitique ou pleural, après tyndallisation pendant trente minutes, plusieurs jours de suite, entre 50 et 60°.

Milieux de Noguchi. — Noguchi a utilisé plusieurs milieux, ainsi constitués :

Milieu A.	Sérum de lapin	1,5 vol.
	Solution de Ringer (1)	4,5 —
	Plasma citraté	1 —
	Huile de vaseline	

(1) Le liquide de Ringer a la composition suivante :

Chlorure de sodium	10 grammes	p. 1 000 d'eau.
— de potassium	0,9 —	—
— de calcium	0,2 —	—
Bicarbonate de soude	0,1 —	—
Glucose	1 gramme.	

Milieu B. Sérum de lapin..... 1,5 vol.
Solution de Ringer..... 4,5 —
Gélose à 2 p. 100..... 1 —
Huile de vaseline.....

Milieu C. Sérum de lapin..... 1,5 vol.
Solution de Ringer..... 4,5 —
Gélose à 2 p. 100..... 1 —

Après solidification on ajoute :

Sérum de lapin..... 1,5 vol.
Solution de Ringer..... 4,5 —
Huile de paraffine.....

Milieu au sérum de lapin-eau physiologique. — Du sérum de lapin est additionné d'eau physiologique à 8,5 p. 1 000 à raison de 1 partie de sérum pour 5 de solution saline; on filtre sur bougie Chamberland, puis on répartit en tubes renfermant de l'huile de vaseline stérilisée; ces tubes sont soumis à la tyndallisation à 56° pendant trente minutes, trois jours de suite.

C'est ce milieu qui a donné à L. Martin et A. Pettit les meilleurs résultats.

De tous les sérums d'animaux, ce sont les sérums de bœuf, de cheval et surtout de lapin qui sont les plus favorables pour ces cultures.

Matériel à ensemencer. — On arrive en général facilement à isoler *Sp. icterohemorragiæ* : déposer aseptiquement des fragments de foie ou de surrénale de cobaye ictérique dans une vingtaine de tubes contenant 10 centimètres cubes de milieu au sérum de lapin ; pour le sang, 2 à 4 tubes suffisent. Sur le nombre des tubes ensemencés, quelques-uns donnent lieu à une culture; quelques-uns de ces derniers où la pullulation s'est faite peuvent être repiqués avec résultats positifs. Pour ces repiquages. il convient d'ensemencer à l'aide de plusieurs grosses gouttes de culture; l'ensemencement classique avec une anse de platine est insuffisant.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — La vitalité du *Sp. icterohemorragiæ* tombé dans les milieux extérieurs est en général de peu de durée.

Si dans les conditions de vie artificielle on peut observer une survie assez importante, comme dans l'eau physiologique, le liquide de Ringer, le sang défibriné, maintenus à la température du labo-

ratoire, il semble que, dans les conditions naturelles, cette survie soit assez limitée; ainsi, dans l'urine, le germe ne se conserve pas au delà de plusieurs heures. D'après les observations qui ont été recueillies sur le mode de contamination, ce sont l'eau potable, les eaux de rivière, d'égouts, la boue des mines qui sont le plus favorables à sa conservation.

La dessiccation est fatale au *Sp. icterohemorragiæ*: du foie farci de parasites, desséché dans le vide, est inoffensif pour l'animal auquel on l'injecte. La lumière n'est pas moins nocive; il en est de même de la température; du sang chauffé une heure à 55° est devenu inoffensif; il en est ainsi pour l'urine portée à 70° pendant une demi-heure, pour une culture portée à 56° pendant le même temps.

Il est très sensible aussi à l'action des substances chimiques.

On a vu plus haut l'influence nocive de l'acidité (p. 894); tous les antiseptiques, même légers, en ont rapidement raison; il en est de même de la bile et des sels biliaires, au moins *in vitro*. Par contre, on observe une résistance marquée à l'action de la saponine.

Enfin, par la concurrence vitale qu'ils exercent, les saprophytes anéantissent rapidement la vitalité de ce germe.

Passage à travers les filtres. — Utilisant les bougies Berkefeld V, N et W, Inada et Ido constatèrent l'absence de spirochètes dans le filtrat; ce dernier injecté reproduisit cependant l'ictère expérimental chez le cobaye.

L. Martin et A. Pettit ont observé des résultats semblables avec la bougie Chamberland L; ils se demandent si le virus ne filtrerait pas sous une forme différente, et notamment sous la forme des corpuscules signalés dans les cultures.

Réactions humorales. — *Sp. icterohemorragiæ* se comporte dans l'organisme qu'il a infecté comme un antigène très actif; il suscite dans le sang la production d'anticorps qu'il est facile de mettre en évidence.

Production d'agglutinines. — L. Martin et Pettit ont constaté que chez les sujets infectés le sérum contient, à partir du dixième jour environ, des agglutinines. Le sérum, en effet, mis en présence d'une culture du parasite, détermine la production d'amas caractéristiques. Cette propriété peut être utilisée pour le sérodiagnostic de l'affection (Voy. plus loin).

Production d'une sensibilisatrice. — Le germe provenant d'une culture fixe le complément quand il est mis en présence d'un sérum de spirochétosique. Mais la sensibilisatrice ne paraît pas spécifique: Costa et J. Troisier, en effet, ont démontré que la fixa-

tion s'opère également quand le sérum de spirochétosique est remplacé par du sérum de syphilitique ; réciproquement la même réaction s'opère en utilisant un antigène syphilitique et un sérum de spirochétosique.

Ces faits démontrent la parenté étroite qui existe entre ce spirochète et le tréponème de la syphilis.

Production d'une immunisine. — Le parasite développe dans le sang des spirochétosiques une substance manifestement immunisante (R. Iloki et H. Ito), que l'on peut déceler, vers la fin du deuxième septénaire, de la façon suivante :

1 à 2 centimètres cubes de sérum sanguin sont mélangés *in vitro* à une dose plusieurs fois mortelle de virus ; on laisse en contact pendant trente minutes ; le mélange est alors injecté au cobaye. Ce dernier résiste alors que les témoins succombent dans les délais habituels (Voy. page 898).

Cette immunisine peut persister de longues années (vingt-deux ans et demi) dans le sang des sujets guéris de spirochétose ictérohémorragique.

Production d'une lysine. — Le sérum de spirochétosiques contient des substances spirochétolytiques.

ACTION PATHOGÈNE.

1° **Dans les conditions naturelles.** — *Sp. icterohemorragiæ* est incontestablement l'agent pathogène spécifique de cette infection qu'on observe *chez l'homme* sous le nom d'ictère à rechutes, accompagné d'hémorragies. On le retrouve à l'origine des diverses formes cliniques de cette affection, voire même des formes sans ictère (Costa et J. Troisier).

Mais ce même germe peut provoquer chez l'animal, spécialement les rats (*M. decumanus*, *M. alexandrinus*), la souris des champs (*Microtus montebelloi*), non une maladie, mais une infection que ces espèces peuvent supporter sans trouble apparent. Il vit ainsi en commensal à l'intérieur d'un hôte qui se trouve être un véritable *réservoir de virus*. Ces faits éclairent d'ailleurs la genèse de la spirochétose chez l'homme.

2° **Action pathogène expérimentale.** — Un certain nombre d'animaux sont *réfractaires* : les singes, la poule, la grenouille, le chat, le porc, le cheval, le mouton, etc. sont du nombre.

D'autres sont *réceptifs* : le *chien jeune*, mais surtout le *cobaye* qui montre au virus une extrême sensibilité. Le lapin, la souris blanche, le rat blanc, tout en étant réceptifs, le sont infiniment moins ; sur

quatorze souris blanches, Ido, Hoki et Wani en infectèrent quatre seulement; Kanetho rendit ictérique un seul rat blanc ; Uhlenhuth et Fromme inoculèrent avec succès deux jeunes lapins. Costa et Troisier réussirent trois fois à conférer à ces animaux un ictère franc qui amena la mort rapide de l'un d'eux; mais ils injectèrent des doses massives de virus.

Quand ces dernières ne sont suivies d'aucun effet pathologique, le spirochète vit néanmoins silencieusement dans l'organisme de ces animaux, qui se comportent alors comme des réservoirs naturels de virus ; leur sang acquiert en outre des propriétés neutralisantes vis-à-vis de plusieurs doses mortelles de virus.

Le *cobaye* est assurément l'animal de choix pour l'étude expérimentale de ce germe ; il présente des troubles presque superposables à ceux qu'on observe chez l'homme. Il est même surprenant de pouvoir provoquer expérimentalement chez l'animal une affection aussi analogue à l'affection humaine correspondante.

Les inoculations peuvent se faire, soit avec le sang ou l'urine de l'homme, soit avec les urines et le rein des animaux réservoirs de virus, soit avec les tissus parasités de cobaye, soit avec des cultures :

Après une incubation de durée assez variable, à la suite de l'inoculation sous-cutanée ou intrapéritonéale, la température s'élève pour atteindre assez rapidement 39 à 40° ; elle persiste ainsi plusieurs jours ; pendant ce temps l'animal maigrit, son poil se hérisse, il semble abattu, ses mouvements sont paresseux. Puis des hémorragies apparaissent, aux dépens notamment des fosses nasales, de l'anus, des organes génitaux chez les cobayes femelles. En même temps la muqueuse conjonctivale s'injecte. Après quelques jours la température décline pour atteindre la normale, voire même s'abaisser au-dessous de cette dernière (hypothermie). Enfin, tardivement apparaît un ictère intense, jaune safran, généralisé à l'ensemble des téguments, plus net chez les animaux de pelage clair, et perceptible au niveau des muqueuses et notamment de la cornée. L'urine présente des signes de cholurie, d'albuminurie, souvent d'hématurie ; on y constate des cylindres et des spirochètes en plus ou moins grande abondance.

L'apparition de l'ictère précède habituellement la mort de quelques heures à vingt-quatre heures. En certains cas cependant, les animaux peuvent survivre. La mort survient généralement en huit à dix jours.

L'autopsie révèle les faits suivants :

La face interne des téguments montre une coloration jaune intense, les muscles sont parsemés d'un piqueté hémorragique, les

ganglions sont hypertrophiés et congestionnés. L'incision thoraco-abdominale montre cette teinte jaune générale.

Les *poumons* sont le siège de taches hémorragiques, larges de quelques millimètres, à contours irréguliers.

Le *foie* est jaune, atteint soit de nécrose, soit de dégénérescence graisseuse, soit des deux simultanément. La vésicule biliaire est modérément remplie de bile.

Le *rein*, infiltré de bile, a une teinte verdâtre. Les *capsules surrénales* sont hémorragiques.

La *muqueuse gastrique* est verdâtre, parsemée de suffusions sanguines.

Ces lésions sont intenses à ce degré quand l'animal a reçu du virus adapté à l'organisme du cobaye. Mais en général, quand il a reçu du virus émanant directement de l'homme ou du rat, elles sont moins marquées; l'ictère est plus pâle et plus limité, les hémorragies sont plus discrètes; elles peuvent même faire défaut.

L'inoculation chez le cobaye ne réalise pas toujours en effet la maladie expérimentale telle qu'elle vient d'être décrite. Certains animaux peuvent même rester réfractaires; d'autres enfin, traités dans les mêmes conditions, et en même temps que ceux qui réagissent fortement, ne présentent qu'une infection légère, sans hémorragie ni même d'ictère ; on n'observe chez eux que de la fièvre et de l'amaigrissement, et l'animal finit par se rétablir complètement.

Siège du virus dans l'organisme. — *Chez l'homme, Sp. icterohemorragiæ* est réparti d'une façon un peu différente suivant la période de l'infection.

Pendant la première semaine, les germes se trouvent dans la circulation d'où ils envahissent divers viscères: foie, surrénales, reins, rate; la rate est l'organe qui en contient le moins.

Pendant la phase ictérique, les germes, subissant sans doute un certain degré de destruction au niveau des viscères, ne sont plus perceptibles qu'à l'état de débris dans le foie et les surrénales: ils sont alors atrophiés ou contractés, et prennent un aspect granuleux; ils persistent en grand nombre dans les reins, le cœur, les muscles squelettiques, les parois de l'intestin, la vessie, l'épididyme, le testicule, la prostate, le thymus; mais c'est au niveau du cœur et du rein qu'ils sont en nombre nettement prédominant. On peut encore les déceler dans le liquide céphalo-rachidien où, d'après Costa et J. Troisier, ils se trouveraient dans la proportion de 60 p. 100 des cas, alors que dans le sang, la proportion n'atteindrait que 40 p. 100.

Quand, après la deuxième semaine, l'état du malade s'améliore,

les germes ne se retrouvent plus que dans le muscle cardiaque, le rein et l'urine (spirochéturie intense), où il peut persister assez longtemps après la guérison.

Chez le cobaye. — En général, deux jours après l'inoculation, les parasites, disparus du point où ils ont été portés expérimentalement, apparaissent dans la circulation où ils déterminent une septicémie; mais il ne sont habituellement décelables (ultramicroscope surtout) qu'en très petit nombre.

D'après les recherches d'Inada et Ito, les *Sp. icterohemorragiæ* sont abondants dans le foie, les reins et les surrénales, mais surtout dans ces dernières (L. Martin et A. Pettit).

Vers le troisième ou quatrième jour, on retrouve les parasites dans les lobules hépatiques même, à l'exclusion du tissu conjonctivo-vasculaire, se disposant de préférence au niveau du pourtour des cellules.

Dans le rein, on les rencontre de préférence dans la zone corticale, mais ils siègent aussi bien dans le tissu conjonctif que dans les parois canaliculaires, d'où ils tombent dans les canaux pour être évacués avec l'urine.

Dans la surrénale, ils se trouvent dans les substances médullaire et corticale, mais plus particulièrement dans la couche fasciculée où ils se disposent sous forme d'amas enchevêtrés dans le sens des travées.

Dans les autres viscères et tissus, leur abondance est infiniment moins marquée; le cœur notamment, contrairement à ce que l'on observe chez l'homme, en renferme généralement fort peu. Costa et J. Troisier ont démontré cependant leur présence dans les centres nerveux; d'ailleurs l'inoculation de tissu nerveux est plus souvent couronnée de succès que l'inoculation des autres tissus et humeurs.

Ces auteurs ont montré en outre que *Sp. icterohemorragiæ* peut traverser le placenta: l'inoculation du liquide amniotique a été positive entre leurs mains.

Chez les rats réservoirs de virus, le parasite se rencontre en abondance et presque exclusivement dans le rein et dans l'urine. D'après Ido, Hoki, etc., le foie, le gros intestin n'en renferment pas ; enfin on observe parfois de la spirochéturie, bien que le rein semble rester indemne.

On ne possède pas de données précises sur la persistance du virus chez ces animaux, qui semblent n'éprouver aucun dommage cependant de sa présence dans leur organisme. Toutefois Ch. Nicolle et Lebailly ont constaté, après inoculation expérimentale, une persistance de soixante-neuf et cent deux jours. Chez

la souris grise, cette dernière pourrait atteindre cent jours, peut-être davantage.

IDENTITÉ DES VIRUS MURIN ET HUMAIN.

Il était important de déterminer, en vue de la relation possible des cas observés chez l'homme et de l'infection naturelle du rat, si les deux virus étaient identiques.

Leur identité était vraisemblable en raison de la similitude des lésions ; les recherches relatives à l'étude des réactions humorales devaient confirmer l'hypothèse. En effet Miyajima a montré que le sérum obtenu avec un virus humain neutralisait le spirochète du *Microtus* (souris des champs) dont il est le commensal naturel. D'autre part, L. Martin et A. Pettit ont constaté que le sérum obtenu avec du virus murin rendait le cobaye réfractaire au virus humain. Mêmes faits observés par Ido, Hoki, etc., à la faveur de la spirochétolyse ; Noguchi a confirmé tous ces résultats et a pu affirmer l'identité des spirochètes de provenances diverses : américaine, asiatique et européenne, recueillis chez l'homme comme chez le rat.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA SPIROCHÉTOSE ICTÉRO-HÉMORRAGIQUE.

Chez un malade atteint de spirochétose ictéro-hémorragique, le diagnostic bactériologique peut être effectué par plusieurs méthodes :

1. **Recherche directe du spirochète.** — Cette recherche peut se pratiquer, par l'examen direct, dans l'urine et le liquide céphalo-rachidien ; dans le sang, elle reste le plus souvent infructueuse en raison de la rareté des parasites contenus dans la circulation.

Dans l'urine. — Le prélèvement de l'urine doit être exécuté avec les précautions aseptiques usuelles, de préférence par sondage pour éviter les spirochètes saprophytes du gland et de l'urètre antérieur. L. Martin et A. Pettit conseillent de recueillir 250 à 500 centimètres cubes d'urine, de centrifuger en plusieurs tubes, et d'additionner les culots obtenus en vue d'une recherche plus fructueuse.

L'examen peut être pratiqué de plusieurs façons :

1° A **l'ultramicroscope**, entre lame et lamelle. La recherche y est longue et fastidieuse en raison du petit nombre habituel de parasites ; de plus, dans certaines urines sanglantes, on perçoit des filaments spiralés, mobiles, ressemblant étrangement aux spirochètes ; un examen détaillé permet à la vérité de les distinguer de

ces derniers (ces figures ne sont que le résultat de l'hémolyse des hématies), mais il expose à des causes d'erreurs.

2° Par le **procédé à l'encre de Burri** (microscope) ; procédé simple permettant de percevoir les parasites qui apparaissent en blanc sur le fond noir ; mais d'après L. Martin et A. Pettit, les spires sont peu nettes ; aussi expose-t-il à des confusions.

3° Par les **colorations appropriées** : Procédés de Giemsa, de Pappenheim ; panchrome Laveran ; biéosinate de Tribondeau, mais de préférence procédés de Fontana et Tribondeau, de Ravaut et Ponselle (p. 855 à 858). Ces deux derniers sont à recommander. Ils permettent de bien observer *Sp. icterohemorragiæ* (fig. 315) et, notamment, de le différencier de *Sp. Pettiti* que Cristau et Maline ont observé à Lorient dans une spirochétose voisine, et qui, d'après Pettit, s'écarte de son congénère, par plusieurs détails morphologiques : *Sp. Pettiti* est plus long, moins trapu, ses ondulations sont plus accusées, plus larges et plus irrégulières.

Signalons ici un procédé imaginé par P. P. Lévy et Léobardy pour le cas où une centrifugeuse ferait défaut :

Il consiste à *ligroïner* l'urine et à recueillir les spirochètes à la partie supérieure des tubes dans lesquels l'urine aura été versée :

1° Formoler préalablement l'urine, pour éviter la fragmentation des spirochètes pendant la manipulation. Verser dans l'urine fraîche 5 à 6 centimètres cubes de formol pur à 40 p. 100 pour 100 centimètres cubes d'urine. Agiter.

2° Dans de grands tubes (22 × 22) verser 6 centimètres cubes d'alcool à 95°, ajouter 40 à 50 centimètres cubes d'urine formolée ; mélanger en renversant le tube trois fois.

3° Verser à la surface de la ligroïne sur une épaisseur de 2 à 3 millimètres ; boucher au liège (il doit rester un espace d'air de 2 à 3 centimètres de hauteur). Agiter violemment pendant une minute ; abandonner verticalement le tube sur la table pendant trente à soixante minutes.

4° *Prélever* l'émulsion. Opérer avec une pipette de gros calibre sectionnée nettement au couteau à verre, montée sur tube de caoutchouc muni d'un embout de verre que l'on tient entre les dents. Procéder par aspirations mesurées, faibles et courtes, de l'émulsion, le tube restant bien vertical, et la pointe de la pipette en contact avec la surface interne du tube. L'émulsion, recueillie sans aspirer le liquide sous-jacent, est versée dans un verre de montre.

5° *Etaler* sur lames dont la surface aura été flambée à haute température et refroidie. Déposer III gouttes de l'émulsion sur lesquelles on verse II à III gouttes d'alcool absolu. Avec la partie effilée de la pipette, posée à plat sur la lame, étaler régulièrement par va-et-vient le mélange où les sphérules de l'émulsion se détruisent instantanément. Sécher à l'étuve et colorer par le procédé de Fontana-Tribondeau.

Dans le *liquide céphalo-rachidien*, la recherche s'effectue sur les mêmes bases que dans l'urine, mais elle est plus simple, en raison de la pureté habituelle du produit. Il faut savoir toutefois qu'un examen négatif ne doit pas faire écarter le diagnostic de spirochétose.

II. **Inoculation au cobaye.** — Injecter sous la peau deux cobayes avec : soit 5 centimètres cubes du sang prélevé chez le malade, soit 0,5 à 1 centimètre cube du culot de centrifugation de l'urine repris

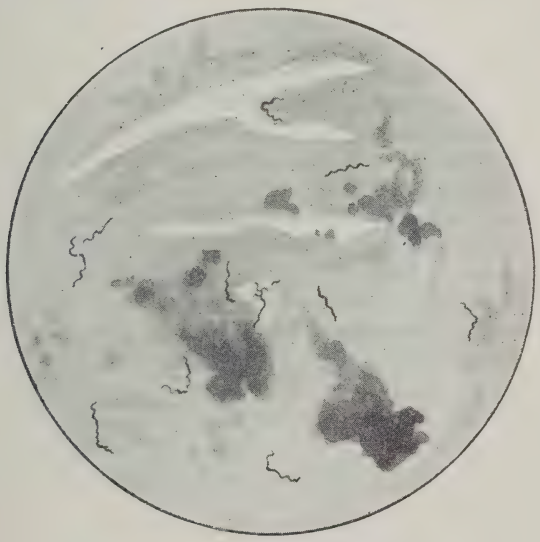


Fig. 315. — *Sp. icterohemorragiæ* dans l'urine.

dans 4 centimètres cubes de ce milieu, soit la totalité du culot obtenu par centrifugation du liquide céphalo-rachidien et mis en suspension dans 5 centimètres cubes de ce liquide.

L'animal présente, si le résultat est positif, les symptômes décrits plus haut, et succombe avec les lésions connues (Voy. p. 898) : on décèle le spirochète à l'ultra-microscope dans les produits provenant des surrénales, du foie et du rein. L'observation des cobayes en expérience doit durer un mois. Si l'examen des organes reste négatif, faire un passage sur deux autres cobayes.

Rappelons que, dans les cinq premiers jours, si le sang est virulent, l'inoculation est toujours positive ; à partir de ce moment, les chances de réussite diminuent ; après le dixième jour, elles cessent.

Les délais sont les mêmes avec le liquide céphalo-rachidien.

Avec l'urine, les résultats ne peuvent être positifs qu'après le dixième jour.

III. **Réaction des immunisines.** — Mettre en contact *in vitro*, pendant quinze minutes, une dose de virus plusieurs fois mortelle avec 1 ou 2 centimètres cubes du sérum prélevé sur le malade ; inoculer les mélanges à deux cobayes. Faire un témoin sans addition de sérum. Suivre les animaux pendant au moins vingt jours : le témoin succombe avec les lésions caractéristiques de l'ictère hémorragique; les deux cobayes inoculés avec le mélange survivent, si le sérum provient de malades atteints de cette spirochétose depuis au moins une quinzaine de jours.

IV. **Sérodiagnostic.** — Dans cinq petits tubes à essais, déposer 1 centimètre cube d'une dilution de sérum à expérimenter à 1/25, 1/50, 1/125, 1/250, 1/500, puis 1 centimètre cube d'une culture de spirochètes âgée de six à huit jours; faire un témoin avec un mélange de 1 centimètre cube de culture et de 1 centimètre cube d'eau physiologique.

Si le sérum provient d'une spirochétose ictéro-hémorragique datant de huit à dix jours, on constate, après une heure de séjour entre 15 et 18°, une agglutination nette que l'on peut observer à l'œil nu si les cultures sont abondantes, ou à l'ultramicroscope si elles le sont peu; des amas se forment sous l'aspect de sphéroïdes irréguliers, granuleux, d'où émergent des spirochètes altérés et animés de mouvements de contorsion ; ces éléments sont en même temps en état de lyse, ce qui permet une différenciation d'avec les amas qui ont pu se former naturellement dans la culture avant l'action du sérum.

Valeur comparée de ces diverses épreuves. — Les épreuves ci-dessus exposées sont de valeur pratique inégale :

La recherche du spirochète dans l'urine a une portée diagnostique un peu aléatoire; tout d'abord elle peut rester négative; d'autre part elle ne permet pas toujours de déterminer exactement si le spirochète décelé est spécifique ou simplement saprophyte ; enfin l'apparition du parasite dans l'urine est assez tardive.

L'inoculation au cobaye donne des résultats tardifs. Outre le temps nécessaire à l'apparition du germe dans la circulation ou dans l'urine, il faut compter encore avec la durée moyenne de l'évolution de l'infection chez cet animal (dix à trente jours), ce qui retarde d'autant la signature du diagnostic. Enfin, l'inoculation peut rester négative malgré la nature ictéro-hémorragique spécifique de l'infection humaine.

L'épreuve des immunisines ne peut être pratiquée que deux

semaines au moins après le début de la maladie; elle ne peut donc renseigner rapidement, d'autant qu'elle emprunte aux inoculations les inconvénients signalés plus haut.

Aussi L. Martin et A. Pettit estiment-ils que, au point de vue pratique, c'est encore le sérodiagnostic qui, malgré l'apparition habituellement tardive du pouvoir agglutinant du sérum des malades, doit être recommandé. Cependant ils l'ont vu se manifester le sixième jour de l'affection; en général il apparaît vers le dixième jour, et se mesure à cette époque par des taux oscillant entre 1/500 et 1/1000. Aussi doit-on procéder de la façon suivante : si le premier résultat est négatif, renouveler l'épreuve tous les deux à trois jours, au moins jusque vers le troisième septénaire.

Ce pouvoir agglutinant continue à se manifester longtemps après la guérison, puisque les auteurs précédents l'ont constaté après vingt-deux mois au taux de 1/1000.

Conduite à tenir suivant les périodes de l'infection. — L. Martin et Pettit, synthétisant les données précédentes, conseillent de se comporter comme suit, selon la période de l'infection qu'on est appelé à observer :

1° Quelle que soit l'époque de la maladie, prélever du sang en vue du sérodiagnostic. En cas de résultat négatif, renouveler l'épreuve tous les deux à trois jours jusqu'à la fin de la troisième semaine.

2° Si l'infection n'a pas dépassé la première semaine, inoculation du sang au cobaye.

3° Du début de la deuxième à la fin de la quatrième semaine : inoculation des urines. Recherche du spirochète dans l'urine, notamment du quinzième au vingt-troisième jour.

4° Depuis le quinzième jour, et indéfiniment ensuite : réaction des immunisines.

5° En cas de réaction méningée, rechercher le parasite directement dans le liquide céphalo-rachidien (ultramicroscope et frottis), ainsi que par inoculation au cobaye.

IMMUNITÉ.

La spirochétose ictéro-hémorragique, spontanée ou expérimentale, confère l'immunité. La présence dans le sang et la persistance de l'immunisine pendant nombre d'années (vingt-deux ans dans un cas d'Uhlenhuth et Fromme) le démontre indiscutablement.

Chez le cobaye infecté expérimentalement, l'immunité est conférée « pendant quelques jours tout au moins » (L. Martin et

A. Pettit). La preuve en est dans la phagocytose que l'on observe dans le péritoine d'un cobaye neuf qui a reçu préventivement la veille 1 à 2 centimètres cubes de sérum d'animal immunisé.

Vaccination. — Ido, Hoki, Ito et Wani, puis L. Martin et Pettit, Uhlenhuth et Fromme ont pu, par la vaccination active, conférer l'immunité à des animaux réceptifs tels que le cobaye.

Les auteurs japonais l'ont réalisée en injectant le liquide clair surnageant d'émulsions hépatiques additionnées de 0,5 p. 100 d'acide phénique : trois injections (2 à 3, puis 2 à 4 centimètres cubes) sont pratiquées dans le péritoine ; certains animaux succombent, mais ceux qui résistent subissent impunément les doses mortelles. Même résultat avec les cultures, traitées de la même façon.

Ito et Matnizoki ont utilisé les cultures sur gélatine au sang tuées par chauffage à 60° pendant une demi-heure, trois jours de suite, ou bien des cultures desséchées.

L. Martin et A. Pettit ont vacciné des cobayes à l'aide de cultures atténuées par des repiquages en série : deux injections de 1 et 2 centimètres cubes à cinq jours d'intervalle confèrent l'immunité aux animaux ayant résisté à cette épreuve. Leur sérum contient des anticorps, et l'immunité persiste au moins pendant trois mois.

Des essais de vaccination humaine ont été tentés par les Japonais. On ignore le degré de protection ainsi obtenu.

Sérothérapie. — La sérothérapie appliquée à titre préventif ou curatif donne chez l'animal d'heureux résultats :

Des recherches que L. Martin et A. Pettit ont pratiquées à l'aide du sérum de chevaux vaccinés contre *Sp. icterohemorragiæ*, il résulte que : le sérum, injecté sous la peau à la dose de 1 à 2 centimètres cubes, immunise temporairement le cobaye contre plusieurs doses mortelles de virus ; la même quantité de sérum administrée pendant les premiers jours qui suivent l'injection amène la guérison ; quand l'ictère est apparu, le sérum prolonge la maladie, mais il n'assure que très rarement la guérison.

Les essais de sérothérapie tentés chez l'homme avec le sérum de L. Martin et A. Pettit ont été très encourageants. L'expérience montre dès à présent que la sérothérapie spécifique n'est efficace que pendant les premiers jours que la maladie ; aussi doit-elle être appliquée sans délai ; « en amenant l'immunité passive chez l'homme, elle s'oppose, par son action spirochéticide et spirochétolytique au développement des parasites ; en trois heures, une dose de 20 c. cubes de sérum rend le sang incapable d'infecter le cobaye ; d'autre part, la date d'apparition des anticorps spécifiques est avancée de plusieurs jours (huitième ou neuvième jour) » (L. Martin et A. Pettit).

CHAPITRE LXVIII

LEPTOSPIRA ICTEROIDES

(AGENT PATHOGÈNE DE LA FIÈVRE JAUNE).

Jusqu'à ces derniers temps, le virus de la fièvre jaune était considéré comme un virus invisible et passant à travers les filtres. Cette notion avait été mise en évidence par la commission américaine, qui eut le mérite de poser les premières assises de l'étiologie du typhus amaril. Tout récemment Noguchi a fait connaître le résultat de ses recherches qui semblent avoir abouti à la découverte du parasite spécifique.

Expériences de la Commission américaine.

Cette commission (Reed, Carrol, Agramonte) avait fait les constatations suivantes :

Reproduction expérimentale. — Par ponction veineuse, on prélève du sang à un malade atteint de fièvre jaune depuis un à deux jours; on l'injecte sous la peau d'un sujet sain : ce dernier, après une incubation de trois à quatre jours, présente tous les symptômes de la fièvre jaune. Le sang de ce deuxième malade est inoculé dans les mêmes conditions à un sujet sain, qui contracte encore la fièvre jaune.

De ces expériences il résulte donc que le virus réside dans le sang; il en disparaît au quatrième jour de la maladie.

Nature du virus. — Toutes les recherches microscopiques les plus minutieuses étaient restées sans résultat. L'hémoculture fut négative dans les milieux artificiels connus.

La Commission américaine a démontré que ce virus traversait les filtres; en effet, du sérum, même non dilué, provenant d'un malade atteint depuis vingt-quatre à quarante-huit heures, est filtré à la bougie Berkefeld ou à la bougie F. Chamberland; inoculé à un sujet sain, il reproduit le typhus amaril. Il peut traverser la bougie B, mais après dilution dans son volume d'eau. Ces conclusions ont été confirmées par les Commissions anglaise et française.

Par conséquent, le virus amaril est un germe dit invisible.

Résistance du virus. — Le virus amaril est très fragile; le sérum qui le contient, chauffé à 55° pendant cinq minutes, perd sa virulence. Il en est de même quand il a été conservé à l'air pendant quarante-huit heures entre 24° et 30°; à l'abri de l'air, sous une couche d'huile de vaseline, il ne perd sa virulence qu'en six à huit jours.

Mode de transmission. — La fièvre jaune se transmet par l'intermédiaire d'un moustique : *Culex fasciatus* ou *Stegomyia fasciata* (expériences de la Commission américaine). Ce moustique s'infecte en piquant l'homme atteint de fièvre jaune, et inocule le virus qu'il a ingéré aux sujets sains, qu'il pique ultérieurement.

Cette transmission est soumise à deux conditions essentielles : 1° il faut que la piqûre du malade ait été faite pendant les deux premiers jours de la maladie; 2° il faut un intervalle de douze jours après la piqûre du malade pour que l'insecte puisse inoculer le virus à un sujet sain. Le virus doit donc subir dans le corps du moustique certaines métamorphoses, qui lui confèrent le pouvoir infectant.

Dans certaines conditions, l'infection peut se transmettre du moustique femelle à ses descendants. D'après Marchoux et Simond, le moustique, issu des œufs héréditairement infectés, n'est infectant qu'après le quatorzième jour de son existence à l'état d'insecte parfait.

Immunité. — Une première atteinte, même bénigne, de fièvre jaune confère l'immunité. C'est ce qui explique l'état réfractaire des natifs des foyers endémiques, qui ont contracté dans l'enfance une atteinte restée fruste de fièvre amarile.

D'après Marchoux et Simond, une injection de sérum contenant le virus, chauffé à 55° pendant cinq minutes avec du sang défibriné, conservé huit jours sous huile de vaseline, confère une immunité relative contre une inoculation virulente ultérieure.

Le sérum prélevé chez un malade au huitième jour est doué de propriétés préventives; il en est de même du sérum des convalescents; ce dernier jouirait même d'un certain pouvoir curatif (Marchoux et Simond).

Recherches de Noguchi.

Les patientes recherches de Noguchi sont arrivées à lui faire constater dans le sang des sujets atteints de fièvre jaune un spirochète ressemblant assez étroitement à celui de la spirochétose ictéro-hémorragique, mais en différant par divers

caractères, notamment les caractères biologiques. Il l'a désigné sous le nom *Leptospira icteroides*.

Morphologie. — Examiné à l'état frais à l'ultramicroscope ou sur les préparations fixées et colorées, *Lept. icteroides* se présente sous l'aspect d'un fin filament de 4 à 9 μ de longueur, dont les extrémités sont effilées; il possède des spires courtes et régulières, mesurant chacune 0 μ, 25.

Il est mobile : sa mobilité se manifeste par des mouvements de vibration, de rotation et de progression bipolaire.

Pour Noguchi, sa multiplication s'effectue par division transversale.

Coloration. — Ce parasite se colore difficilement par les couleurs d'aniline; mais, après fixation par l'acide osmique, puis coloration par la méthode de Giemsa, ou de préférence celle de Fontana-Tribondeau, on obtient de bonnes préparations, mais le parasite se montre sous un aspect différent de celui qu'il présente à l'état frais : il est légèrement ondulé, sans dentelures nettes. Les formes en C et en S sont fréquentes ; elles seraient caractéristiques.

Cultures. — Pour obtenir des cultures de *Lept. icteroides*, Noguchi a utilisé un milieu spécial combiné comme suit : tout d'abord un milieu liquide constitué par 1 partie de sérum d'homme n'ayant pas l'immunité contre la fièvre jaune, et 3 parties de solution de Ringer (p. 894); puis un milieu demi-solide constitué par le milieu liquide précédent additionné de 0,3 p. 100 de gélose.

Dans un long tube, il superpose les deux milieux, le semi-solide étant réservé pour le fond. Chacun d'eux est versé à raison de 8 centimètres cubes.

La mise en culture se pratique de la façon suivante : On commence par ensemencer le milieu semi-solide à 42°, en faisant couler au fond du tube 0 ,5 à 1 centimètre cube de sang citraté que l'on veut cultiver; après refroidissement, on ajoute le milieu liquide ; on y ensemence de même 0cc,5 à 1 centimètre cube de sang citraté, et l'on verse à la surface une couche de paraffine.

Le développement microbien s'effectue assez rapidement à 37°, mais le germe conserve peu de temps sa vitalité. A 25° il est plus lent, mais la vitalité peut se conserver plusieurs mois, sans que la virulence fléchisse.

Les cultures ainsi obtenues donnent, par inoculation aux animaux réceptifs, la fièvre jaune expérimentale.

Propriétés biologiques. — *Vitalité.* — D'une façon générale, *Lept. icteroides* est très fragile : le chauffage à 55° pendant dix minutes seulement a raison de sa vitalité. Il est rapidement tué par la congélation et la dessiccation.

La bile, et les sels biliaires à la dilution de 10 p. 100 le dissolvent aisément; il résiste par contre à l'action de la saponine.

Il subit défavorablement l'action de la concurrence vitale microbienne, car la présence de bactéries étrangères entrave sa culture ou contribue à le faire disparaître des milieux où il est cultivé.

Filtrabilité. — Les expériences de Noguchi montrent que *Lept. icteroides* traverse les bougies Berkefeld V. et N.

Siège du parasite dans l'organisme. — *Chez l'homme, Lept. icteroides* siège dans le sang périphérique; Noguchi a pu le déceler par l'examen direct et par l'expérimentation; toutefois les résultats positifs obtenus par ces procédés sont assez rares : sur vingt-sept cas, l'examen direct le décela trois fois; dans quatre cas où ce dernier resta négatif, l'inoculation au cobaye fut couronnée de succès.

Dans les viscères, Noguchi ne put constater (ultramicroscope et frottis) la présence du parasite que dans un cas, au niveau du foie d'un sujet mort le quatrième jour de l'infection.

Chez treize sujets, les recherches directes dans l'urine et l'inoculation de ce produit restèrent négatives.

Une fois cependant, l'animal inoculé présenta une infection analogue à l'infection expérimentale, mais le parasite ne put être mis en évidence.

Chez l'animal en expérience, le sang devient infectieux quarante-huit heures ou mieux soixante-douze heures après l'inoculation; mais l'ultramicroscope ne peut déceler le parasite avant le cinquième jour; les spirochètes deviennent plus nombreux les sixième et septième jour; on peut alors les rencontrer dans le foie et les reins, mais ils se raréfient ou même disparaissent quand l'ictère et les symptômes généraux s'aggravent; à cette période, le sang et les viscères (foie notamment) sont dénués de spirochètes; les inoculations positives sont exceptionnelles.

Action pathogène expérimentale. — Les expériences de Noguchi ont porté sur le cobaye, qui paraît être l'animal de choix : 6 fois sur 27 cas étudiés à ce point de vue, l'auteur obtint la fièvre jaune expérimentale à la suite de l'injection intrapéritonéale de sang frais, ou de préférence de sang enrichi par un séjour de trois jours à 25° dans un mélange de liquide de Ringer et de sérum humain, recouvert d'huile de vaseline; il a inoculé avec succès les cultures artificielles.

Après une incubation de trois à six jours, l'animal présente une vive élévation de température qui s'accompagne d'albuminurie, de cylindrurie, d'oligurie et d'une hyperémie considérable, se manifestant surtout au niveau des conjonctives, des oreilles et de la face plan-

taire des pattes, et déterminant souvent des suffusions sanguines. Au bout de quelques jours, la fièvre tombe en lysis, et descend même au-dessous de la normale. A ce moment de l'évolution, l'ictère apparaît, s'accroissant progressivement : il siège au niveau des conjonctives, puis de la peau ; l'urine est chargée de pigments biliaires ; enfin il s'accompagne d'hémorragies diverses se développant au niveau des muqueuses nasale, gingivale, buccale, intestinale, de même aussi au niveau des téguments sous forme de pétéchies. L'animal ne tarde pas à succomber.

L'autopsie montre un ictère généralisé ; le foie est jaune et présente de la dégénérescence graisseuse, les reins sont congestionnés, souvent hémorragiques ; des suffusions sanguines siègent au niveau des poumons et des muqueuses digestives ; l'estomac contient parfois un liquide noir, rappelant l'aspect du goudron et analogue à celui qu'on observe dans le *vomito negro*.

Dans le sang, le foie et les reins, on décèle la présence du *Lept. icteroides*. L'ensemencement donne des cultures de ce parasite.

Tous les cobayes ne sont pas également réceptifs. Certains d'entre eux réagissent d'une façon moins complète, et ne présentent qu'une infection légère ou avortée, caractérisée par de la fièvre accompagnée d'un ictère léger ; l'ictère peut même être absent. Enfin certains de ces animaux paraissent réfractaires.

Avec le sang et les organes des cobayes nettement infectés, Noguchi a pu inoculer en série d'autres cobayes avec résultats positifs ; ces passages n'affaiblissent nullement la virulence du parasite.

D'autres animaux sont réceptifs : tels le singe et le chien, bien que les symptômes soient moins accusés que chez le cobaye ; ils se rapprochent davantage cependant de ceux qu'on observe chez l'homme ; le chien notamment présente souvent pendant la vie du *vomito negro*.

Les singes à queue prenante, le chat, le lapin, l'agouti, la belette, les oiseaux sont réfractaires à *Lept. icteroides*.

Enfin Noguchi a démontré que la piqûre du cobaye par des *Stegomyia calopus*, ayant préalablement sucé du sang de malades atteints de fièvre jaune, déterminait chez cet animal la fièvre jaune expérimentale. Il en est de même quand le moustique a été infecté par le sang d'un cobaye atteint de cette infection ; en ce cas le pouvoir infectant se montre déjà au bout de huit jours (au lieu de douze jours avec du sang humain) ; cette différence est due sans doute au nombre des parasites, beaucoup plus élevé chez l'animal que chez l'homme.

Réactions humorales. — Le *sérum des convalescents* de fièvre

jaune contient des anticorps vis-à-vis de *Lept. icteroides*. En effet la démonstration peut en être faite par la recherche du phénomène de Pfeiffer :

On mélange du sérum de convalescent à une culture de spirochètes recueillis chez un malade, ou à une émulsion d'organe d'animal inoculé. Le mélange est injecté dans le péritoine du cobaye. Dans la plupart des cas (83 p. 100), on constate la lyse du parasite les résultats sont négatifs avec les témoins.

D'autre part, ce sérum protège en général le cobaye contre l'infection expérimentale, alors que les cobayes témoins la contractent.

Ces propriétés du sérum semblent apparaître vers le dixième jour.

Dans une autre série de faits, Noguchi avait d'ailleurs constaté que des cobayes, ayant présenté, à la suite d'une première inoculation, une infection légère, résistaient à l'injection ultérieure d'une dose massive de pulpe de viscères riches en *L. icteroides*.

Tous ces faits semblent bien prouver, d'une part la production d'anticorps dans l'organisme à la suite de l'infection par ce parasite, et d'autre part le rôle spécifique de ce dernier dans l'étiologie de la fièvre jaune. Ces réactions ont servi à Noguchi pour déterminer notamment que le Spirochète, que l'on décèle dans 67 p. 100 des cas chez les rats et les souris à Guayaquil et qui présente de grandes analogies avec *Sp. icterohemorragiæ*, n'est autre que ce dernier et diffère donc totalement de *L. icteroides* avec lequel on pourrait le confondre.

Ces données essentielles ont reçu pleine confirmation dans les expériences conduites avec les antisérums mis en présence des deux parasites :

En effet les *sérums préparés* par injections de *L. icteroides* à des animaux réfractaires (cheval, lapin), sont doués de propriétés agglutinantes et bactéricides indiscutables vis-à-vis de ce germe.

L'*agglutination* s'observe non seulement avec les souches homologues, mais les souches les plus diverses du parasite. Elle est nulle avec *Sp. icterohemorragiæ*. Par contre un sérum *anti-ictérohemorragiæ* est inactif vis-à-vis de *Lept. icteroides*.

Le *phénomène de Pfeiffer* permet une différenciation encore plus nette entre les deux germes ; les constatations concordent avec celles de l'agglutination et les accentuent.

Les sérums *anti-icteroides* et *anti-ictérohemorragiæ* jouissent respectivement, à faible dose, d'un *pouvoir neutralisant* élevé à l'égard de l'infection expérimentale déterminée par chacun de ces parasites. Avec de fortes doses, la spécificité paraît plus douteuse, car une

quantité suffisante de sérum *anti-icteroides* empêche la mort des cobayes inoculés avec *Sp. icterohemorragiæ* et inversement.

La *réaction de fixation* donne des résultats moins probants, car elle ne s'est souvent montrée complète qu'avec la souche ayant servi à préparer le sérum.

Malgré cela, les constatations précédentes semblent bien être en faveur de la spécificité du parasite décrit par Noguchi et de sa distinction d'avec celui de la spirochétose ictérohémorragique.

Essais de sérothérapie. — Chez l'animal, l'antisérum est doué de propriétés curatives, se manifestant dans les conditions suivantes :

Injecté par voie péritonéale, pendant la période d'incubation, le sérum s'oppose complètement à l'éclosion de l'infection expérimentale du cobaye.

Pendant la première phase de l'infection (soixante-douze à quatre-vingt-seize heures après l'inoculation du virus), il n'empêche pas l'infection (l'ictère peut même se déclarer après la sérothérapie), mais il peut empêcher la mort à condition d'employer des doses élevées.

Injecté pendant la phase d'ictère et de néphrite, le sérum n'a plus aucune efficacité.

CHAPITRE LXIX

PARASITE DE LA FIÈVRE DES TRANCHÉES

La « fièvre des tranchées » a été décrite pour la première fois en 1915 par Graham qui l'avait observée sur le front britannique ; elle sévit de même avec fréquence parmi nos ennemis ; elle fut beaucoup plus rare sur le front français. Elle reçut des dénominations diverses : fièvre de Wolhynie, fièvre de cinq jours, fièvre tibialgique, maladie de His-Werner. En France, l'usage a consacré le nom de fièvre des tranchées qui lui fut donné dès le début.

Le type clinique suivant lequel elle se manifeste a une individualité propre ; elle est caractérisée par un début brusque, des algies diverses et surtout par une fièvre à allure spéciale ; elle présente des récurrences plus ou moins répétées avec des poussées « en clocher » durant trois à cinq jours ; on observe ainsi trois, quatre à cinq poussées semblables.

L'étiologie de cette infection a suscité pendant la guerre des travaux nombreux ; elle a notamment fait l'objet de recherches très approfondies de la part des commissions anglaise et américaine, créées à cet effet. Les résultats obtenus peuvent être résumés comme suit :

1° Du sang prélevé chez un malade au moment des accès fébriles, et inoculé sous la peau de sujets sains, reproduit chez ceux-ci la maladie. Le pouvoir infectant est à son maximum le premier et deuxième jour de l'affection.

2° Le virus se trouve dans le sang ; il est décelable dans le plasma et paraît adhérer aux globules rouges ; on le décèle encore dans les urines : le simple dépôt, sur la peau scarifiée, de sédiments urinaires infectieux confère la maladie ; d'après la commission américaine, le virus, au moins à un stade de son cycle évolutif, traverse les filtres (expériences d'inoculation des sédiments urinaires filtrés). Il résiste à la dessiccation et au chauffage à 56° pendant vingt minutes ; il est tué à 80° pendant dix minutes.

3° L'affection se transmet par *Pediculus corporis* après huit à neuf jours d'incubation. La commission anglaise estime que la trans-

mission ne s'effectue pas par piqûre : le sujet s'infecterait en introduisant dans les érosions de grattage les excreta du pou, dans lequel le virus peut être d'ailleurs mis en évidence. D'après la commission américaine, ce mode de contamination intervient certainement, mais la piqûre de l'insecte peut servir à l'inoculation ; ce serait pour elle le mode d'infection le plus habituel.

4° Aucune des deux commissions ne donne de conclusion sur la nature du germe spécifique.

Quel est ce germe ?

De nombreux parasites avaient été décrits comme étant les agents pathogènes de la fièvre des tranchées. Mais le seul qui semble mériter d'être retenu est un spirochète sur lequel l'attention est attirée depuis quelque temps.

En 1916, Werner, puis Korbsch, en raison du caractère évolutif de l'infection, soupçonnent qu'il pourrait s'agir d'un spirochète. Riemer, en 1917, confirme cette hypothèse et estime que le spirochète qu'il a décelé dans le sang d'un malade est doué de spécificité.

Plus tard, Couvy et Dujarric de la Rivière découvrent de même un spirochète dans la circulation d'un soldat occupant le front de Champagne : un cobaye inoculé avec le sang de ce sujet succomba ; le foie contenait le parasite. En 1917, ils reprirent cette étude sur un prisonnier allemand dont l'examen sanguin leur donna un résultat positif ; ils retrouvèrent le spirochète dans les urines. En 1919, A. Coles fit des constatations semblables.

Il est possible que ce germe soit l'agent pathogène de cette infection. En attendant que la preuve de ce rôle spécifique soit définitivement démontrée, il semble intéressant de reproduire ici la description de *Sp. gallica*, suivant la dénomination proposée par Couvy et Dujarric de la Rivière.

Morphologie. — Chez l'homme et le cobaye infecté expérimentalement on trouve dans le sang périphérique quelques rares échantillons d'une spirochète présentant une forme courte (4 à 7 μ de long) présentant un petit nombre de tours de spire.

Dans les frottis de foie et de rein des cobayes inoculés, le parasite est plus long et mesure 10 à 12 μ, avec 3 à 4 tours de spire.

Ce spirochète ne présente aux extrémités ni nodule, ni flagelle. Il est moins fin que *Tr. pallidum*, moins épais que *Sp. Obermeieri* ; dans la forme longue, il rappelle le spirochète du sodoku ; les formes courtes sont plus fines que celles de ce dernier.

On obtient de bonnes colorations à l'aide du panchrome et des couleurs d'aniline. Le meilleur procédé est celui de l'imprégnation à l'argent.

Action pathogène expérimentale. — On peut infecter le cobaye par inoculation sous-cutanée de sang recueilli chez l'homme pendant une poussée fébrile. Après une incubation de quatre à dix jours, l'animal présente une affection légère avec amaigrissement, dyspnée et une fièvre récurrente à peu près analogue à celle qu'on observe chez l'homme. Il succombe parfois, mais le plus souvent se remet de l'infection ainsi provoquée. Aussi convient-il de prendre journellement sa température pour ne pas laisser passer inaperçus les phénomènes généraux qu'il présente.

Pour étudier cette infection expérimentale et mettre sûrement les spirochètes en évidence, Couvy et Dujarric de la Rivière sacrifient le cobaye, inoculé avec le sang du malade, au moment de la deuxième ou troisième récurrence, et examinent les frottis de foie et de rein où ils décèlent alors facilement les parasites. Enfin au moment d'une poussée fébrile chez le cobaye, ils prélèvent du sang du cœur et l'inoculent soit à un cobaye neuf, soit à des souris. Avec ces derniers animaux, les résultats semblent moins concluants, en raison de la facilité avec laquelle on les trouve naturellement parasités par des spirochètes.

Pour différencier *Sp. gallica* des autres spirochètes et notamment de celui de l'ictère hémorragique, ils ont utilisé les réactions d'immunité :

Deux cobayes sont inoculés avec 5 centimètres cubes de sang d'un sujet atteint de fièvre des tranchées, puis avec du *Sp. icterohemorragiæ*. Ils succombent avec les lésions caractéristiques dues à ce virus. Enfin le sérum des malades ne contient pas d'immunisine pour ce dernier.

Le pouvoir pathogène de ces deux germes est d'ailleurs très différent.

CHAPITRE LXX

SPIROCHÈTE DU SODOKU

Parmi les infections que peut causer la morsure des rats, il en est une qui présente des caractères bien définis, des symptômes qui lui sont propres, c'est le sodoku (en japonais : so : rat, doku : poison). Après une incubation d'assez longue durée, on observe, au niveau de la morsure elle-même, des réactions locales suivies de symptômes généraux ; ceux-ci consistent dans un état infectieux avec fièvre et une éruption généralisée, procédant par poussés fébriles successives.

L'étude bactériologique de cette infection a suscité d'assez nombreux travaux qui attribuent à des germes très divers un rôle étiologique spécifique. En 1909, Shikami incrimine une télosporidie, Ogata une hémosporidie; en 1910, Middleton un diplocoque; en 1914, Schottmüller un streptothrix, résultat mis en doute par Futaki, pour qui l'infection observée était étrangère au sodoku.

La question en était à ce point lorsqu'en 1915 et 1916, des savants japonais (Futaki, Takaki, Taniguchi et Osumi, puis Ishiwara, Ohtawra et Tamura) firent connaître qu'ils avaient décelé des Spirochètes spéciaux dans le sang des malades, et en décrivirent la morphologie. Des expériences réalisées, il résulte que ce germe est pathogène pour le cobaye et peut être transmis directement à l'homme. Mêmes observations faites en 1917 par Kitawaya et Mukoyama, En 1918, Costa et J. Troisier retrouvent ce germe dans le sang d'un sujet atteint de la même infection.

Sans qu'on puisse actuellement être définitivement éclairé sur le rôle spécifique de ce parasite, il semble bien qu'il doive intervenir dans l'étiologie du sodoku.

Morphologie. — Dans l'organisme infecté par *Sp. japonica* (dénomination donnée par Dujarric de la Rivière), ce dernier se montre habituellement sous deux formes de dimensions différentes : une forme courte de 2 à 6 μ de long, épaisse, munie d'un flagelle à chaque extrémité, que l'on rencontre de préférence au niveau de la morsure et dans le sang des animaux en expérience ; une forme longue (9 à 10 μ) siégeant plus particulièrement dans les ganglions lymphatiques. Pour Kaneko, Okuda, Ito, Ido et Wani, il s'agit d'une seule et même espèce.

Examen à l'état frais. — Examiné à l'ultramicroscope, le parasite se montre sous l'aspect d'un spirochète dont la longueur varie de 1 μ,5 à 5 ou même 6 μ. Il reste acquis que les échantillons les plus

courts se trouvent dans le sang périphérique, et les plus longs dans les ganglions. Dans les cultures, ils peuvent atteindre 12 à 19 μ de longueur. Les spires sont au nombre de 2 à 6 ; ils possèdent deux flagelles : un à chaque extrémité.

Le parasite est animé de mouvements spasmodiques en spirale ; les flagelles présentent des mouvements de torsion et « en coup de fouet ».

Examen après coloration. — Après fixation et coloration, on retrouve les mêmes caractères morphologiques.

Coloration. — *Sp. japonica* se teinte facilement par toutes les couleurs d'aniline ; le procédé de Giemsa le colore en rouge foncé et donne de belles préparations. Il en est de même de l'imprégnation à l'argent qui lui donne un aspect trapu et colore les flagelles en jaune marron.

Cultures. — En milieu de Noguchi, on n'obtient que des résultats négatifs. Takaki a observé des cultures nettes avec le milieu de Shimamine :

A 100 centimètres cubes de sérum de cheval, on ajoute 0gr,5 à 0gr,75 de nucléinate de soude : après dissolution complète, on fait passer pendant trois ou quatre minutes, au travers de ce liquide, un courant d'anhydride carbonique jusqu'à ce que le sérum devienne transparent. Chauffer pendant une heure à 60°, trois jours consécutifs ; le quatrième jour on chauffe à 65°, pendant trente minutes jusqu'à séparation en deux parties, l'une solide, l'autre liquide que l'on utilise. Dujarric de la Rivière fait passer le courant d'anhydride carbonique pendant une heure, puis coagule le milieu, et exprime fortement l'éponge de sérum obtenue ; le liquide recueilli est stérilisé par la chaleur ou par filtration.

Ensemencer, porter à l'étuve à 37° où la culture est laissée pendant environ deux semaines.

La culture est grêle ; on ne décèle que six à dix parasites par champ de microscope.

Siège du parasite. — Chez l'homme atteint de sodoku, *Sp. japonica* se trouve au niveau de la morsure, puis dans le sang périphérique, mais seulement au moment des poussées fébriles (il y est d'ailleurs très peu abondant) ; on le rencontre encore au niveau de l'éruption et dans le suc ganglionnaire.

Chez l'animal en expérience, on le décèle au point d'inoculation, dans la circulation, enfin dans la rate et les capsules surrénales.

Action pathogène chez les animaux. — *Infection dans les conditions naturelles.* — Il est avéré actuellement que, dans les conditions naturelles, les rats hébergent le parasite du sodoku, et

le transmettent vraisemblablement à l'homme et aux animaux. Sur 43 rats examinés par Fukaki, un seul était parasité ; sur 80 examinés par Ishiwara, 10 véhiculaient le parasite dans leur sang.

Sp. japonica ne paraît pas se trouver dans la salive ; si cette dernière est infectante, c'est sans doute à la faveur de l'hémorragie gingivale qui se produit à l'occasion de la morsure.

D'autres animaux que le rat peuvent être parasités: le chat, le furet (Atkinson), la belette (Scheube).

Infection expérimentale. — L'inoculation de cultures ne donne aucun résultat. L'action pathogène expérimentale ne peut être réalisée qu'avec les produits pathologiques où siège le virus.

Le cobaye, la souris, le rat, le singe sont réceptifs.

Le cobaye peut être infecté soit par injection sous-cutanée, soit après morsure par un rat infecté (Ishiwara).

Au point d'inoculation, on observe de l'œdème; le membre mordu ou injecté se cyanose, les ganglions se tuméfient. Le deuxième jour apparaît de la fièvre qui tombe presque aussitôt pour réapparaître sept à huit jours après; la température évolue par poussées successives, irrégulièrement ; l'animal ne présente aucun érythème ; il maigrit.

L'autopsie montre tout d'abord de l'œdème au point inoculé, puis de l'inflammation des ganglions inguinaux et axillaires; le foie et les poumons sont congestionnés ; les veines présentent des hémorragies sous-capsulaires et de petites suffusions sanguines dans la zone corticale. Les capsules surrénales sont hypertrophiées et hémorragiques; le péritoine est parfois le siège d'un épanchement sanguin.

Les spirochètes sont décelables dans le suc des ganglions, dans les émulsions de substance cérébrale, de capsules surrénales et dans le sang du cœur; dans ce dernier, les parasites n'apparaissent qu'à la dernière période.

L'inoculation de ces tissus parasités reproduit l'infection, mais l'incubation devient plus courte, et les parasites peuvent être décelés dans le sang de deux à quatre jours après l'inoculation ; ultérieurement, vers le huitième ou dixième jour, ils sont plus abondants que lors du premier passage.

Chez le rat et la souris, l'inoculation n'est suivie d'aucun signe d'infection, mais les parasites pullulent en assez grande abondance dans la circulation, bien qu'ils n'y apparaissent souvent qu'un à deux mois après l'injection.

Inoculé au cobaye, ce sang l'infecte et amène la mort avec les lésions caractéristiques, décrites plus haut.

Le singe paraît assez réceptif, témoin les expériences de Futaki,

Ishiwara qui injectèrent des macaques (*M. fuscatus* et *M. rhesus*) : cinq jours après une injection de sang dans le péritoine, *M. rhesus* présenta une forte élévation thermique accompagnée d'érythème et d'hypertrophie ganglionnaire. Au troisième jour, apparurent au niveau de la région lombaire des taches rouges, dont le nombre augmenta progressivement jusqu'au douzième jour, pour s'étendre ensuite à l'abdomen. L'évolution de l'infection fut marquée tous les deux à trois jours par la production de poussées fébriles, analogues à celles qu'on observe en clinique humaine ; on en compta six en vingt-cinq jours. Le sang et le suc ganglionnaire injectés à des souris et à des rats déterminèrent dans la circulation de ces rongeurs la pullulation de nombreux spirochètes.

Ces faits expérimentaux sont de nature à séparer *Sp. japonica* de *Sp. muris* que l'on rencontre parfois chez les souris sauvages ou domestiques, et qui ne détermine ni les effets pathogènes ni les lésions qui viennent d'être décrites.

Réactions humorales. — Ido, Ito, Okuda et Wani ont mis en évidence la présence d'anticorps spécifiques pour le parasite incriminé dans le sérum des sujets atteints de sodoku. Ils ont observé une lyse manifeste des spirochètes, en mettant en contact *in vitro* le sérum et les parasites. Mêmes constatations en réalisant dans le péritoine du cobaye un véritable phénomène de Pfeiffer.

Un mélange de sérum de convalescent et de sang de cobaye contenant des spirochètes est introduit dans le péritoine d'un cobaye neuf : une demi-heure à deux heures après l'injection, les spirochètes ont disparu.

Ceux-ci sont perceptibles au contraire après l'inoculation de sang spirochétifère seul, ou de ce dernier et de sérum de convalescent de spirochétose ictéro-hémorragique.

Ces faits témoignent des propriétés spirochétolytiques du sérum, et des différences spécifiques qui séparent *Sp. japonica* du Spirochète de l'ictère hémorragique.

Diagnostic bactériologique. — Le diagnostic bactériologique peut se faire :

1° Par l'examen direct (état frais et état sec après coloration) du sang et du suc ganglionnaire des sujets infectés.

2° Par l'inoculation au cobaye de ces produits spirochétifères.

CHAPITRE LXXI

SPIROCHÆTA BRONCHIALIS

Castellani a décrit en 1905 et 1906, dans certains cas de *bronchite sanglante* observés aux Indes, un spirochète nouveau auquel il a attribué un rôle spécifique dans l'étiologie de cette affection, dont les symptômes peuvent donner le change avec ceux de la tuberculose pulmonaire.

Ces recherches furent confirmées, en 1907 aux Antilles britanniques par Branch, aux Philippines en 1911 par Jackson, Phalen, Kilborne et Chamberlain, en 1913 au Soudan par Chalmers et O'Ferral, etc. Cette bronchite et son agent pathogène furent retrouvés par plusieurs auteurs en Amérique du Nord, en Angleterre, en Suisse, en Serbie, etc.

En France, aucun cas n'était encore signalé en 1914. Pendant la guerre, Castellani les observa dans un sanatorium de la côte adriatico-balkanique; en 1918, Violle les rencontra sur la côte méditerranéenne, chez des Chinois et Indo-Chinois, puis des Sénégalais et Malgaches, enfin chez des Français n'ayant jamais quitté le sol de la France, et ayant été contaminés sans doute par les sujets précédents. Mêmes faits rapportés par Beau, Dide et Ribéreau; par Barbary, Simon et Raditsch dans la région de Nancy; Pringault et Mercier à Marseille.

Il résulte des observations connues jusqu'alors que ce germe paraît bien être l'agent spécifique de cette « bronchite sanglante », témoin, à défaut d'autres preuves, sa présence constante et sa grande abondance dans l'expectoration des sujets qui en sont porteurs.

Morphologie. — ***Examen à l'état frais.*** — L'examen à l'état frais, entre lame et lamelle, d'un fragment de crachat sanglant montre, outre des éléments cellulaires (hématies, leucocytes, cellules d'origine pulmonaire, etc.), la présence de nombreux spirochètes, dont le caractère polymorphe est déjà manifeste, mais sera plus perceptible sur les préparations colorées. Ils se montrent tantôt à l'état isolé, tantôt sous l'aspect d'amas épais. Ceux qui sont libres sont doués de mouvements rapides, donnant l'impression « d'une corde qui vibre » (Violle); quand ils se ralentissent, les ondulations deviennent plus amples et leur donnent l'aspect d'une anguille se jouant au milieu des éléments cellulaires qu'ils bousculent.

Examen sur préparations colorées. — *Aspect microscopique.* — Sur les préparations colorées, on constate le polymorphisme extraordinaire de ce spirochète, et tel que l'on croit tout d'abord être en

présence d'éléments spirillaires tout différents; Fantham affirme qu'il ne s'agit que d'un seul et même parasite.

Il se montre en effet (fig. 316) « sous la forme d'éléments grêles ou trapus, longs ou courts, tantôt délicats et nombreux, tantôt grossiers et rares, ressemblant ici à un trait imperceptiblement tremblé, à un fil tordu et vrillé, là à des fibres lâches, à des bâtons grossièrement arqués » (Violle). Les dimensions fixées par Castellani varient en effet de 4 à 30 μ de longueur sur 0μ,2 à 0μ,6 d'épaisseur; les

Fig. 316. — *Spirochæta bronchialis.*

ondulations sont au nombre de 2 à 8. Les extrémités sont assez souvent en pointe ; il n'existe pas de flagelles. Fantham a décrit dans certains spirochètes une membrane très délicate qu'il dénomme « *crista* » ; il les déclare morphologiquement différents des spirochètes habituels de la bouche.

Si la préparation est épaisse, les parasites sont agglomérés, mais intriqués et mêlés les uns aux autres pour former un feutrage dense « comme un écheveau de fils embrouillés et de grosseur différente ».

Coloration. — Ce spirochète se colore facilement par les couleurs basiques d'aniline : violet de gentiane, kristall-violet, bleu de méthylène, etc., plus aisément encore quand on emploie les procédés

connus d'imprégnation par les sels d'argent, et notamment par la méthode de Fontana-Tribondeau. Il se montre alors teinté en noir, tranchant sur le fond mordoré de la préparation.

Siège du parasite. — *Sp. bronchialis* se trouve avec l'abondance décrite plus haut dans le mucus bronchique ; Castellani l'a décelé cependant dans le mucus nasal des sujets atteints de cette « bronchite sanglante ». On ne le rencontre ni dans le sang, ni dans aucun autre viscère. Il détermine donc une infection locale des voies respiratoires.

Action pathogène expérimentale. — *Sp. bronchialis* n'a pu être obtenu en culture pure. Par conséquent l'expérimentation n'a pu porter sur ce germe à l'état d'isolement.

L'inoculation intratrachéale de crachats provenant de bronchospirochétose pratiquée chez le singe par Chalmers et O'Ferra reproduit l'affection humaine avec sa symptomatologie, le caractère spécial de l'expectoration et l'abondance des *Sp. bronchialis*.

Diagnostic bactériologique. — L'examen clinique ainsi que l'examen macroscopique de l'expectoration ne renseignent guère sur la nature spéciale de la bronchite dont les malades sont atteints : ce sont des crachats abondants (un quart de litre en vingt-quatre heures), d'abord muqueux, gommeux, puis sanglants, sous forme de crachats hémoptoïques ou teintés en rose d'une façon homogène. Certains auteurs cependant ont observé des caractères de l'expectoration qui pourraient, d'après eux, suffire à un diagnostic macroscopique.

En réalité cet aspect macroscopique ne peut donner une certitude que seul l'examen bactériologique est capable de fournir.

Dans ce but, il convient d'effectuer l'examen sur des crachats récemment émis ; on a alors sous les yeux l'aspect précédemment décrit montrant une grande abondance des éléments parasitaires avec leur polymorphisme caractéristique. Si, au lieu d'être précoce, l'examen n'est pratiqué qu'après plusieurs heures, il se produit une véritable « sputolyse » (Dalimier) portant à la fois sur les hématies et sur les spirochètes qui finissent par ne plus être perceptibles. Ces derniers se trouvent en plus grand nombre dans les parties cruoriques des crachats ; ce sont donc ces dernières qu'il faut de préférence soumettre à l'examen. Enfin, dernière précaution indispensable : faire des préparations minces pour éviter une trop grande épaisseur de gangue gommeuse, dont la coloration risquerait de masquer les parasites.

CHAPITRE LXXII

AMIBES

Les Amibes ont fait l'objet de fort nombreuses études.

Diverses variétés en ont été décrites, mais, parmi elles, deux nous intéressent plus particulièrement : ce sont l'Amibe dysentérique, qui joue un rôle pathogène spécifique dans certaine variété de dysenterie, et l'Amibe vulgaire du côlon, que l'on oppose habituellement à la première, car elle vit à l'état normal dans le tube digestif, mais à l'état saprophytique.

AMIBE DYSENTÉRIQUE.

C'est à Lambl que revient le mérite d'avoir signalé, en 1859, la présence d'amibes dans les selles humaines; mais la première description de l'amibe dysentérique est due à Lösch, qui, en 1875, la désigna à tort sous le nom d'*Amœba coli*. Plus tard, en 1891, Councilman et Lafleur lui attribuent nettement un rôle pathogène et lui donnent le nom d'*Amœba dysenteriæ*. Puis Koch, Kartulis, Kruse et Pasquale, Quincke et Roos, Schaudinn poursuivent son étude. Schaudinn notamment admet l'existence de deux amibes, l'une pathogène (*Entamœba histolytica*), l'autre saprophyte (*Ent. coli*).

La preuve en fut fournie surtout par la découverte des kystes tétragènes que Viereck, en 1907, opposa à ceux d'*Ent. coli*. Il est vrai que cet auteur crut se trouver en présence d'une amibe différente d'*Ent. histolytica* ; il la nomma *Ent. tetragena* ; Hartmann l'appela *Ent. africana*.

Ce n'est que depuis peu de temps, à la suite des travaux de Walker, Hartmann, Whitmore etc., qu'on finit par admettre qu'*Ent. histolytica* et *Ent. tetragena* étaient identiques, mais représentaient des types différents d'une seule et même amibe : *Ent. dysenteriæ*, qui pouvait revêtir, dans sa forme végétative, des aspects variables suivant son cycle évolutif. En effet les travaux récents montrèrent

nettement que, dans les selles mucoso-sanguinolentes des crises aiguës d'amibiase intestinale, et dans le pus des abcès amibiens viscéraux, cette amibe présentait toujours le type *histolytica* que Schaudinn avait fait connaître. Vers la fin des crises dysentériques, apparaissent des formes *tetragena* qui leur survivent et peuvent persister, en même temps que des kystes de ces parasites, après la guérison complète.

En définitive, il semble résulter des dernières recherches sur l'amibe dysentérique que « seules les amibes du type *tetragena* et les kystes font partie de son évolution cyclique, et que les amibes du type *histolytica* sont des formes aberrantes, apparaissant d'une façon passagère au moment des crises dysentériques, et ne rentrant pas dans le cycle normal du parasite » (Mathis et Mercier).

D'autres amibes furent rencontrées accidentellement dans l'intestin humain; devant leur diversité le problème s'est posé de l'unicité ou de la pluralité de l'amibe dysentérique. On est d'accord actuellement pour le résoudre dans le sens de l'unicité.

A cette question se rattachent les travaux récents de Walker, Darling, Craig, Mathis et Mercier, Wenyon, Dobell et Jepps, etc.

La description de l'amibe dysentérique doit donc comprendre :

1° Les formes végétatives, types *tetragena* et *histolytica*.

2° Les formes de dégénérescence.

3° Les formes enkystées (kystes).

Formes végétatives.

Aspect microscopique. — *Entamœba tetragena* (Viereck). — Cette amibe spécifique ne se rencontre que dans les selles diarrhéiques des sujets atteints d'amibiase intestinale chronique, ou convalescents d'amibiase aiguë.

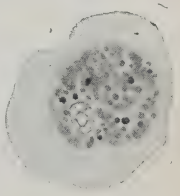


Fig. 317. — *Entamœba tetragena* vivante (Viereck).

Aspect du parasite vivant. — Ce parasite se montre sous la forme d'une masse protoplasmique de forme plus ou moins irrégulière, mais généralement ovalaire, mesurant de 20 à 25 μ de diamètre (fig. 317). Elle est constituée par un endoplasme et un ectoplasme, bien que la distinction soit beaucoup moins réelle que dans le type *histolytica* (p. 927).

L'endoplasme est finement granuleux et présente de grandes vacuoles dépourvues de contractilité. Il contient des débris alimentaires, quelques microbes, mais *aucun globule rouge*. Il possède un noyau vésiculeux dont la situation varie ; il est central ou plus ou

moins excentrique, et mesure 4 à 5 μ de diamètre. Il renferme des granulations réfringentes formant couronne et accolées contre la membrane nucléaire, et en son centre, un *caryosome*, dont la partie centrale est occupée, d'après Hartmann, par un *centriole*.

Fig. 318. — Amibe de la dysenterie (fixation : sublimé alcoolo-acétique ; coloration : hématoxyline ferrique).

a et *b* = type *tetragena* ; *c* = type *histolytica* (Mathis).

L'ectoplasme se réduit le plus souvent à une zone périphérique plus claire, d'aspect homogène.

Cette amibe est douée de mouvements, mais paresseux et peu accusés ; elle émet lentement des prolongements pseudopodiques.

Aspect après fixation et coloration. — Sur les préparations colorées par des procédés électifs comme celui d'Heidenhain (Voy. p. 928), le protoplasma présente nettement une structure alvéolaire; le noyau est entouré d'une membrane mince, renforcée à l'intérieur par des granulations volumineuses fortement teintées en noir; autour du caryosome central se détache un cercle relié à la membrane nucléaire par des trabécules, ou bien achromatiques, ou bien contenant de très fines granulations disposées en couronne. L'aspect général est celui d'une *roue*. Enfin au centre du caryosome se trouve le centriole qui fixe intensément la laque ferrique (1).

Entamœba histolytica. — Ce type d'amibe dysentérique ne se rencontre que dans les selles muco-sanguinolentes d'amibiase intestinale aiguë ou subaiguë, et dans le pus des abcès amibiens du foie, du poumon, du cerveau.

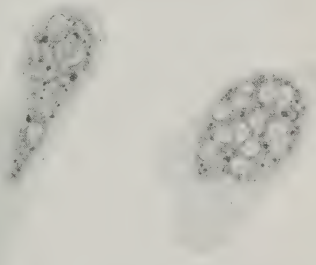


Fig. 319. — *Entamœba histolytica* vivante (Schaudinn).

A l'état vivant. — Masse protoplasmique plus volumineuse que chez *Ent. tetragena*, oscillant entre 25, 40 et même 50 μ. Cette masse, ronde ou ovale ou piriforme quand elle est au repos, est nettement divisée en deux parties :

L'une sombre, granuleuse : l'*endoplasme*, qui contient des débris cellulaires et alimentaires, et surtout des hématies, logées dans des vacuoles. Ces hématies peuvent être tellement nombreuses que l'endoplasme en est littéralement bourré; on perçoit enfin parfois un noyau rond pourvu d'un nucléole; il n'est pas toujours visible, surtout si l'endoplasme contient beaucoup de vacuoles et de globules rouges.

L'autre portion du corps amibien est claire, transparente, réfringente : c'est l'*ectoplasme*.

Un caractère primordial de l'*Entamœba histolytica* vivante est sa *mobilité* : examinée dans une selle dysentérique, entre lame et lamelle, à la température du laboratoire, les mouvements qu'elle

(1) Il semble que l'on puisse rapporter à *Ent. dysenteriæ* une autre variété d'amibe, décrite par Elmassian sous le nom d'*Ent. minuta* : amibe de petites dimensions (10 à 20 μ) avec un endo et un ectoplasme peu nettement séparés, pouvant contenir quelques hématies; elle est peu mobile et possède un noyau visible seulement après coloration. On la rencontrerait de préférence dans les formes frustes ou chez les convalescents.

présente sont actifs et très prononcés, à ce point qu'on ne peut suivre ses contours quand on veut la dessiner à la chambre claire. En un point de l'ectoplasme, le parasite émet un pseudopode, souvent en forme de doigt de gant ; puis un autre prend naissance en un point opposé ; puis ils se retirent alors que d'autres apparaissent ailleurs. L'endoplasme est moins mobile ; néanmoins, on le voit s'étirer, s'étrangler, se renfler tour à tour, et les éléments cellulaires qu'il contient semblent subir l'action d'un courant qui les entraîne d'un bout à l'autre du parasite ; par instants, on croirait assister à la coulée d'une substance en fusion.

Ces mouvements ne font pas progresser l'amibe ; ils s'effectuent sur place ; au bout de quelques heures, ils se ralentissent, puis cessent ; en même temps l'amibe prend une forme ronde, et la distinction entre l'endo et l'ectoplasme n'est plus perceptible ; le parasite est uniformément granuleux, et le noyau devient plus nettement visible.

Sur frottis colorés. — L'amibe est alors plus ou moins arrondie. La séparation entre l'endo et l'ectoplasme est en général difficilement perceptible, sauf toutefois chez certains éléments surpris par la fixation au moment de l'émission d'un pseudopode ; l'ectoplasme se manifeste alors sous l'aspect d'une zone excentrique claire et homogène. L'endoplasme est nettement alvéolaire et contient des hématies présentant des teintes plus ou moins foncées suivant le degré de la digestion dont elles ont été l'objet.

Le noyau ne diffère pas essentiellement de celui de *Ent. tetragena* : il est cependant moins riche en chromatine, et les granulations accolées à la face interne de la membrane d'enveloppe sont moins abondantes et moins volumineuses. Le caryosome peut ne pas être visible.

Coloration. — L'amibe dysentérique est assez difficile à fixer et à colorer. Les procédés ordinaires ne donnent que de mauvaises préparations où les parasites sont extrêmement déformés. Il faut donc employer des procédés spéciaux qui seuls permettent de respecter les détails de leur structure.

Frottis. — **Méthode d'Heidenhain à l'hématoxyline ferrique.** — C'est assurément le procédé de choix :

Fixation. — Fixer, avant dessiccation, dans le liquide suivant, chauffé aux environs de 50° :

Solution saturée de sublimé.....	2 parties.
Alcool absolu.....	1 partie.
Acide acétique.....	1 à 2 p. 100 du volume total.

Disposer les frottis à plat, la face enduite en dessous, dans un récipient contenant le fixateur.

Après dix minutes de séjour, rincer à l'eau, puis faire passer dans la série des alcools suivants : alcool à 40° (dix minutes), alcool à 70° iodé (quinze minutes), alcool à 90° (vingt minutes), alcool à 40° (quinze minutes). Laver ensuite à l'eau distillée et colorer.

On peut encore utiliser pour la fixation le liquide de Bouin-Duboscq :

Acide picrique cristallisé.....	1 gramme.
Formol du commerce à 40 p. 100.....	60 cent. cubes.
Alcool à 80°.....	150 —

Au moment de l'emploi, ajouter à 100 centimètres cubes de ce mélange 7 centimètres cubes d'acide acétique glacial.

Immerger la préparation pendant vingt minutes ; faire agir ensuite l'alcool à 70°, puis à 30°. Rincer à l'eau et colorer.

Coloration. — Immerger la préparation, pendant deux heures, dans la solution suivante de fer ammoniacal :

Alun de fer ammoniacal.....	4 grammes.
Eau distillée.....	100 cent. cubes.

Laver à l'eau distillée, et colorer pendant douze à vingt-quatre heures dans la solution « mûrie » d'hématoxyline :

Hématoxyline purissime.....	1 gramme.
Alcool absolu.....	10 cent. cubes.

Laisser dissoudre, puis ajouter :

Eau distillée.....	190 cent. cubes.

La préparation est noire : laver à l'eau et différencier par la même solution d'alun de fer que précédemment, mais diluée à moitié ; suivre la différenciation sous le microscope pour obtenir des images nucléaires nettes.

Quand on juge la différenciation suffisante, laver à l'eau distillée et colorer durant quelques secondes à l'aide d'une solution aqueuse d'éosine à 1 p. 100. Laver de nouveau et faire agir la série des alcools, le xylol. Monter au baume.

Par cette méthode, le protoplasma amibien est rose ; les autres éléments ont la teinte décrite plus haut.

Autres méthodes de coloration. — Signalons les méthodes connues utilisées pour les hématozoaires en général : celles de Romanowski, Laveran, Giemsa, Leishman, etc. qui, inférieures à la précédente, donnent des images difficiles à interpréter.

La *coloration de Tribondeau* par l'hémalun à l'argent-éosine donnerait, d'après Carles, de meilleurs résultats :

Fixer le frottis humide par un séjour d'une heure dans le liquide de Bouin (Voy. plus haut) ; on peut encore fixer à l'alcool à 70°, ou mieux à l'aide d'une solution d'acide chromique à 1 p. 100 (quelques secondes).

Colorer pendant deux minutes dans la solution d'hématéine à l'argent :

Hématéine à l'argent (sol. alcoolique).....	10	grammes.
Alun de potasse.....	10	—
Eau distillée neutre.....	200	—

Laver à l'eau. Traiter ensuite par une solution alcoolique d'éosine pendant quinze à vingt secondes. Laver. Sécher. Observer.

Coloration des amibes dans les coupes. — Fixer par l'alcool, ou le sublimé acétique. Colorer par :

Hématéine-éosine. — Le protoplasma est rose, le noyau violet.

Hématéine et fuchsine picriquée (Van Gieson). — Protoplasma coloré en jaune fauve, noyau violet brunâtre. Ce procédé donne d'excel-

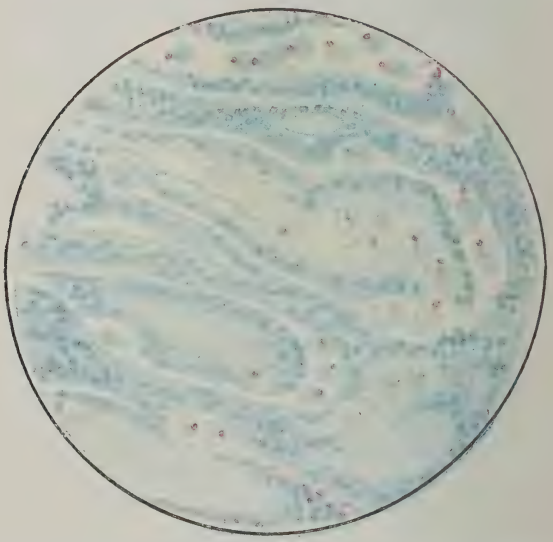


Fig. 320. — Coupe d'intestin dysentérique. Amibes dysentériques (coloration de Mallory et Wright).

lentes préparations si la fixation a été effectuée au sublimé acétique.

Thionine-acide oxalique (Mallory et Wright). — Fixer par l'alcool. Colorer pendant cinq minutes par une solution aqueuse, saturée de thionine. Différencier par une solution d'acide oxalique à 1 ou 2 p. 100; suivre la différenciation au microscope ; l'arrêter dès que les noyaux prennent une teinte violacée. Laver. Déshydrater, etc.

Le protoplasma est bleuté; le noyau est rouge ou violet, alors que celui des leucocytes environnants est bleu foncé (fig. 320).

Picro-indigo-carmin (Borrel). — Fixation nécessaire par le liquide de Flemming. Colorer tout d'abord pendant dix minutes par une *solution aqueuse saturée de rouge-magenta*, puis pendant quatre minutes par la solution suivante :

Solution aqueuse saturée d'acide picrique..... } aa
— — de carmin et indigo..... }

Laver, déshydrater, xylol.

Les amibes sont grisâtres, limitées par un contour bleu; l'ectoplasme et l'endoplasme sont nettement distincts: l'ectoplasme prend l'aspect d'un fin réticulum ou d'une substance hyaline bleutée; l'endoplasme, granuleux, est rouge, bleu ou gris suivant le degré de la décoloration; le noyau est violet ou rougeâtre.

Ces procédés sont certes capables de faire percevoir les amibes dans les coupes et de les distinguer des autres éléments cellulaires avec lequels elles pourraient être confondues, mais ils ne mettent pas suffisamment en évidence les détails histologiques que le suivant fournit avec netteté.

Hématoxyline ferrique (Heidenhain). — Fixer au sublimé acétique. Colorer comme pour les frottis (Voy. plus haut). Protoplasma à peine teinté; son contour est nettement indiqué par une ligne bleu noir; le noyau montre des grains de chromatine de même teinte.

Formes de dégénérescence.

On rencontre parfois dans les selles de dysentériques, à côté des formes précédentes, des aspects qui ont été diversement interprétés, surtout comme représentant des phénomènes de reproduction, et qui traduisent en réalité des formes de dégénérescence.

Telles les figures de bourgeonnement décrites par Schaudinn sous le nom de kystes exogènes; telles encore les figures montrant des amibes dont les noyaux ont subi des phénomèmes de caryolyse, pouvant faire penser à un état chromidial. En d'autres, il semblerait, d'après Hartmann, qu'on assiste à la copulation de deux noyaux; il revint dans la suite sur cette affirmation, pour estimer qu'il s'agissait uniquement de figures de dégénérescence.

Formes enkystées (kystes).

Aspect microscopique. — Les kystes d'*Ent. dysenteriæ*, examinés à *l'état frais*, se montrent sous la forme de petites sphères d'aspect

légèrement granuleux, de teinte grisâtre; ils sont limités par une membrane d'enveloppe lisse à *double paroi* et présentant des dimensions comprises entre 10 et 15 μ. Suivant le stade de leur évolution, ils présentent un à quatre noyaux assez difficilement perceptibles, il est vrai, et des bâtonnets réfringents. Ces détails de leur structure sont plus nettement observés sur les préparations fixées et colorées.

Après fixation et coloration : ils présentent l'aspect général précédent ; leurs dimensions sont cependant un peu réduites, en raison de la fixation qui amène une rétraction de 2 μ à 2μ,5. A l'état sec, donc, ils mesurent 10 μ à 11μ,5.

Suivant la division établie par Mathis et Mercier, ils seront décrits sous trois aspects : kystes mûrs, en voie de développement et en dégénérescence, ces trois aspects pouvant se trouver dans les selles en proportion variable suivant leur degré d'évolution au moment de leur élimination avec les déjections.

Kystes mûrs. — Les kystes mûrs contiennent *quatre noyaux* (1); ceux-ci ont un diamètre de 1μ,5 à 2μ,5 ; ils sont pourvus d'une couronne de granulations teintées en noir, bordant la face interne de la membrane nucléaire, et d'un amas central de fins granules sidérophiles (caryosome).

Le cytoplasma est encore pourvu de *masses oblongues* d'une substance sidérophile, réfringente à l'état frais, mais se colorant en noir intense par la laque ferrique. Ces masses, désignées sous le nom de chromidies, de chromidium, de bâtonnets chromidiaux, sont dénommées « *bâtonnets sidérophiles* » par Mathis ; cet auteur estime en effet qu'elles ne dérivent pas du noyau, mais exclusivement du cytoplasme.

A côté de ces formes typiques, il existe des formes *atypiques :* certains kystes mûrs présentent en effet des dimensions inférieures ou supérieures. D'après Mathis et Mercier, ils n'existent que dans la proportion de 10 à 15 p. 100 du chiffre total des kystes à quatre noyaux. D'autres enfin sont dépourvus de chromidium (10 p. 100 environ).

Kystes en voie de développement. — Ces kystes, qui ont les mêmes dimensions que les kystes mûrs, n'ont pas encore quatre noyaux; ils n'en possèdent qu'un ou deux, chiffre qui correspond aux différentes étapes de la division nucléaire avant d'arriver au stade quadrinucléé complet ; certains même en possèdent trois, la division d'un des noyaux au stade binucléé se trouvant en retard sur la mitose de son congénère.

(1) Kuenen et Swellengrebel auraient rencontré des kystes d'*Ent. dysenteriæ* possédant plus de quatre noyaux. Il n'est pas prouvé que ces kystes n'aient pas appartenu à d'autres amibes.

Comme dans les kystes mûrs, le chromidium, habituellement présent, peut faire défaut.

Kystes en dégénérescence. — Enfin des kystes en dégénérescence peuvent s'observer dans la proportion de 3 à 10 p. 100. Quand

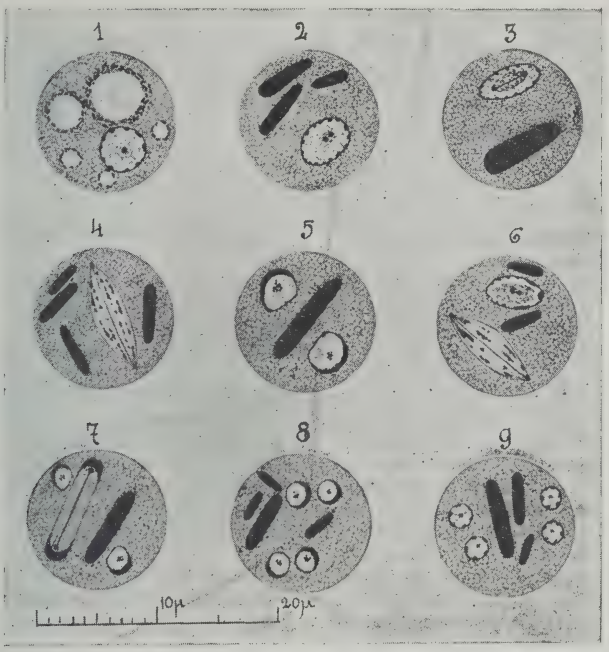


Fig. 321. — Kystes à 4 noyaux d'*Ent. dysenteriæ* après coloration (Mathis).

1. Kyste à un noyau et vacuoles ; 2. Kyste uninucléé avec bâtonnets sidérophiles ; 3 et 4. Première division nucléaire ; 5. Stade à deux noyaux ; 6 et 7. Deuxièmes divisions nucléaires ; 8 et 9. Kystes tétragènes.

la dégénérescence atteint le noyau, la chromatine de ce dernier se condense, puis se fragmente et s'émiette. Quand elle atteint le cytoplasma, elle se traduit par la formation de vacuoles, qui peuvent se fusionner pour figurer une grande vacuole ronde ou ovale, rejetant le chromidium et les noyaux à la périphérie.

Coloration. — La coloration des kystes s'obtient de préférence par la méthode d'Heidenhain avec surcoloration par l'éosine qui montre le cytoplasma coloré en rose, et la chromatine nucléaire en

noir ; même teinte noire opaque et homogène pour les bâtonnets sidérophiles.

Ce procédé, qui exige vingt-quatre heures au moins, a été rendu plus rapide à la suite des modifications apportées par Walker (Voy. *Diagnostic*).

Enfin, bien que la coloration soit imparfaite, on peut utiliser *pour un examen extemporané*, les procédés indiqués par Mathis, à la solution de lugol, ou à l'hématoxyline seule après fixation par l'acide osmique. Mais ils ne sauraient remplacer les premiers, qui seuls peuvent montrer les détails de structure nécessaires.

CULTURES.

De nombreux auteurs se sont efforcés d'obtenir des cultures de l'Amibe dysentérique.

Signalons, à titre documentaire, les essais d'Auerbach, Vivaldi, qu opérèrent en milieu liquide. Celli et Fiocca se servirent de milieux au *fucus crispus*, Schardinger de macération de foin, Kartulis de macération de paille. Sur ces milieux, les Amibes qui cultivent sont des Amibes banales,

Musgrave et Clegg ont employé une gélose peu nutritive, préparée comme suit : eau, 1 000; gélose, 20; extrait de bœuf, 0,3 à 0,5. Après alcalinisation, on coule en boîtes de Petri. Ils ont ainsi obtenu des cultures impures d'Amibes diverses et croient avoir réalisé la culture de l'Amibe dysentérique ; les kystes de cette dernière auraient, à la suite de l'ingestion, conféré la dysenterie amibienne expérimentale au chat et même à l'homme. Ces résultats sont intéressants et mériteraient d'être confirmés.

Par un procédé identique, Lesage a cultivé des Amibes, mais leur nature dysentérique est douteuse. Enfin, en ensemençant les selles dysentériques dans un extrait de leucocytes, il a observé encore des cultures d'Amibes probablement saprophytes.

En un mot, la culture de l'Amibe dysentérique reste à découvrir.

Dans tous ces essais, la culture amibienne n'est jamais pure; pour se développer, elle a besoin d'une culture satellite de microbes banaux dont elle se nourrit.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Mode de reproduction. - Les notions que l'on possède actuellement sur le mode de reproduction d'*Ent. dysenteriæ* sont assez restreintes: elles ont d'ailleurs été et sont encore l'objet de multiples discussions. Néanmoins, à la suite des travaux de Schaudinn, Hartmann, Craig, Mathis et Mercier, un certain nombre d'entre elles semblent acquises.

Schaudinn avait affirmé que la reproduction s'effectuait par division et par bourgeonnement. Schaudinn lui-même, ainsi qu'Hart-

mann, Craig, etc., qui avaient admis ce dernier mode, ont reconnu ultérieurement leur erreur.

Il semble bien, d'après Hartmann, puis Mathis et Mercier, que la reproduction de l'amibe végétative ne s'effectue que par *division simple :* comme Wenyon l'avait observé chez *Ent. muris*, quand le noyau va se diviser, le centriole commence à s'étirer en haltère ; puis le caryosome s'allonge pour figurer un fuseau avec grains chromatiques disposés en rangées longitudinales: les centrioles-fils s'écartent l'un de l'autre. En définitive toute la formation nucléaire s'étire en forme de biscuit, et la division s'opère. Il s'agirait donc d'une mitose s'effectuant sous la membrane nucléaire, une mésomitose (Charton). La division du cytoplasma n'a été vue par aucun auteur. « Cependant, la présence dans nos préparations de petites amibes, dont les noyaux ont les mêmes dimensions que ceux des amibes binucléées, ne laisse aucun doute sur la réalité de ce phénomène qui doit s'accomplir très rapidement » (Mathis et Mercier).

Job et Hirtzmann ont admis que la division pouvait s'effectuer aussi par la *schizogonie*; autour de grains chromatiques, ces auteurs ont observé une condensation protoplasmique ; l'amibe, présentant alors des figures de « morula », serait constituée par plusieurs masses protoplasmiques individualisées, pourvues, en leur centre, d'un grain chromatique ayant la valeur d'un noyau. Il s'agirait donc, dans l'espèce, d'amibes filles qui s'individualiseraient dans la suite pour former les jeunes amibes.

Enfin ces jeunes amibes résultant du premier ou du deuxième mode pourraient, d'après ces auteurs, se reproduire par bourgeonnement.

Mathis et Mercier s'élèvent contre cette conception et font remarquer que les figures de « morula » doivent être interprétées, avec Hartmann, Darling, Craig, etc., comme des figures de dégénérescence. Les amibes filles qu'ils auraient constatées correspondaient sans doute à de petites amibes *limax* ou des flagellés altérés, et seraient étrangères au cycle d'*Ent. dysenteriæ*.

De même aussi les figures de bourgeonnement (sporogonie) seraient également, ainsi que l'avait signalé Hartmann, des figures de dégénérescence.

Bref, *Ent. tetragena*, contrairement à *Ent. coli*, ne se reproduirait que par *division simple*. Quant au type *histolytica*, il aurait perdu, d'après Mathis et Mercier, le pouvoir de se multiplier. Ces auteurs n'ont jamais constaté, dans cette forme, « d'aspects susceptibles d'être interprétés comme se rapportant à une phase de division nucléaire ».

Enkystement. — Après un certain temps de vie végétative, le parasite s'enkyste : l'amibe qui va s'enkyster s'immobilise et prend une forme sphérique. Le cytoplasma reste alvéolaire, mais le noyau subit des modifications. D'après Hartmann, une partie de la chro-

matine nucléaire est expulsée dans le cytoplasma. Puis ce dernier se contracte, le noyau augmente de volume, les granulations chromatiques se fusionnent pour former les bâtonnets chromidiaux sidérophiles. (Il est vrai que pour Chatton, chez une amibe du singe, les chromidies seraient élaborées par le cytoplasma et préexisteraient aux modifications nucléaires).

En même temps, le parasite s'entoure d'une mince membrane d'enveloppe : le kyste est alors constitué ; puis le noyau se divise en deux, et chacun des noyaux ainsi formés se divise à nouveau en deux : division pas toujours synchrone, ce qui explique la présence, parfois constatée, de kystes à trois noyaux.

Ces kystes, uniquement sexués, sont des kystes gamogoniques (Mathis et Mercier) alors que les kystes *d'Ent. coli* sont, les uns sexués (gamogoniques), les autres asexués (schizogoniques).

Cycle évolutif d'Ent. dysenteriæ. — Voici, d'après Mathis et Mercier, comment on peut se figurer l'évolution du parasite :

Des kystes sont ingérés par un sujet sain : ils donnent naissance chacun à quatre amibes qui se forment par individualisation d'une masse cytoplasmique autour de chacun des noyaux. La mise en liberté des amibes s'effectue vraisemblablement dans la région initiale de l'intestin grêle.

Chaque amibe se multiplie alors par division simple. Puis après quelque temps elles s'enkystent à nouveau. Il est impossible, dans l'état actuel de nos connaissances, de déterminer si ces kystes peuvent être de sexualité différente. D'après Mathis et Mercier, d'ailleurs, ils n'assureraient en aucune façon la pullulation du parasite chez l'hôte où ils se sont formés. « Il doivent être nécessairement rejetés dans le milieu extérieur, puis ingérés, pour poursuivre leur évolution ».

Tel est le cycle, pour ainsi dire normal, d'*Ent. dysenteriæ*, dont le type *tetragena* peut ainsi évoluer silencieusement et indéfiniment dans l'intestin humain.

Mais si, au cours de cette évolution, certaines conditions nouvelles, encore mal déterminées, se produisent, un certain nombre d'*Ent. tetragena* se transforment pour prendre le type *histolytica*, et restent sous cet aspect tant que ces conditions persistent. Quand ces dernières prennent fin, les formes *histolytica* disparaissent progressivement pour laisser la place aux *Ent. tetragena*. Mathis et Mercier estiment d'ailleurs que celles-ci ne disparaissent jamais, même dans les crises de dysenterie. En effet, sur un même sujet qui présente des selles dysentériques constituées par des glaires sanguinolentes et des matières diarrhéiques, l'examen des premières montre

une prépondérance marquée des formes *histolytica*; quant aux secondes, elles ne révèlent que des *tetragena*. *Ent. histolytica* n'est donc qu'une forme «aberrante» et passagère, étrangère au cycle évolutif normal d'*Ent. tetragena*.

Vitalité. — Résistance. — On sait peu de choses sur la vitalité d'*Entamœba dysenteriæ*. Dans l'intestin, cependant, elle doit être grande, témoin les récidives multiples qu'elle provoque sans nouvelle contamination. Les examens histologiques montrent qu'elle vit à

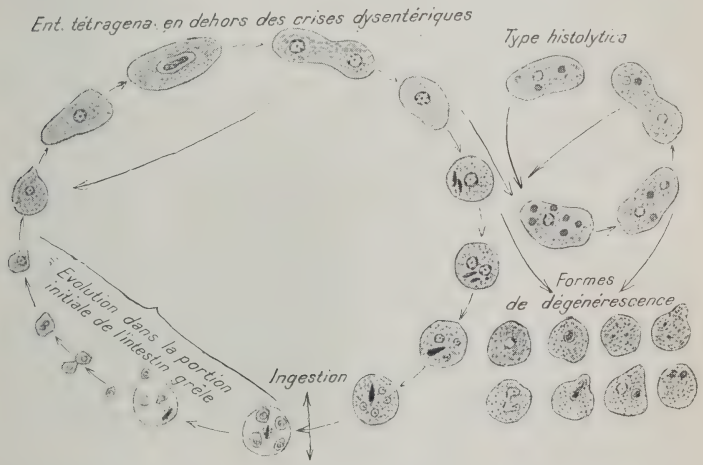


Fig. 322. — Cycle évolutif d'*Entamœba dysenteriæ* (d'après Mathis et Mercier).

l'état de latence dans les couches profondes du gros intestin, son activité se réveillant à la moindre cause occasionnelle.

Quand l'Amibe sous la forme végétative est tombée dans le milieu extérieur, elle est peu résistante aux agents atmosphériques, à la chaleur, à la dessiccation; elle succombe en quelques heures. Le kyste figure en réalité sa forme de résistance. Celle-ci varie suivant les facteurs auxquels il est exposé; sous l'influence de la dessiccation, la résistance est très limitée; l'humidité au contraire permet sa conservation pendant au moins quinze jours et peut-être davantage (Penfold, Woodcock et Drew, etc.). Kuenen et Swellengrebel ont de même démontré leur résistance à l'action de l'eau, ce qui concorde avec la notion de l'origine hydrique de la dysenterie amibienne en bien des circonstances.

Les mêmes auteurs ont signalé que dans les matières fécales la

résistance des kystes est indiscutable, mais moins marquée que dans l'eau

Musgrave et Clegg, puis Strong ont étudié l'action des antiseptiques sur les cultures qu'ils ont cru obtenir : l'amibe résiste peu aux solutions de formol et de quinine, les kystes ne sont détruits que par les solutions de potasse et de soude à 20 p. 100.

Dans les selles, l'acide borique ne possède aucune action; par contre, le sublimé, l'acide osmique, les solutions d'acides minéraux et surtout le chlorhydrate neutre de quinine arrêtent instantanément les mouvements du parasite ; le permanganate de potasse, le bleu de méthylène sont moins efficaces (H. Vincent); les expériences de Ronald Ross ont montré que les solutions de sels d'émétine ont, *in vitro*, une action amibicide énergique.

POUVOIR PATHOGÈNE DE L'AMIBE DYSENTÉRIQUE.

On a beaucoup discuté le pouvoir pathogène de l'amibe dysentérique : les uns ont voulu voir en elle un hôte banal de l'intestin, incapable de provoquer des lésions; les autres ont affirmé son rôle spécifique dans l'étiologie de la dysenterie amibienne.

Le désaccord qui a régné pendant longtemps entre les auteurs tient à l'impossibilité d'obtenir des cultures pures d'Amibes et de reproduire à l'aide de ces dernières une dysenterie expérimentale. Néanmoins, son rôle pathogène peut être prouvé de plusieurs façons :

1° L'Amibe dysentérique siège dans les lésions qui correspondent à l'état morbide intestinal spécial qu'on observe. Dans la dysenterie bacillaire, elle est absente.

2° Les selles de dysenterie contenant l'Amibe dysentérique sont seules capables de provoquer chez le chat, en injection intrarectale, une dysenterie amibienne typique (Voy. plus loin) ; les mêmes selles filtrées sur flanelle (Kartulis) ou chauffées à 45° pendant trente-cinq minutes (Marchoux) ne peuvent plus la provoquer. Enfin l'injection de selles de sujets indemnes d'Amibes dysentériques, ou porteurs d'*Amœba coli* vulgaire, de dysentériques bacillaires, ne peut conférer la dysenterie expérimentale.

MANIFESTATIONS PATHOLOGIQUES.

L'Amibe dysentérique donne naissance à des lésions présentant diverses localisations.

Dans sa *localisation intestinale*, la plus fréquente, elle engendre une

dysenterie spéciale, caractérisée par la formation d'ulcères profonds, à bords décollés, surplombant les régions atteintes. Parfois elle porte ses atteintes sur l'*appendice* (appendicite amibienne décrite par Harris, Kartulis, Musgrave).

De l'intestin elle peut coloniser dans le foie pour déterminer l'*hépatite* dite *dysentérique*, ou grand abcès tropical du foie, dans les *poumons*, dans la *rate* (Kartulis), dans le *cerveau* (Kartulis, Legrand et Axisà).

Dans tous ces viscères, l'Amibe provoque tout d'abord de la *nécrose* des tissus qu'elle envahit. Dans ces *abcès nécrotiques*, l'Amibe seule est perceptible, et le tissu nécrosé est vierge de tout autre germe : plus tard, survient la suppuration vraie, qui, dans l'intestin, s'ouvre dans la cavité digestive pour produire les ulcères décrits ; dans le foie, le poumon, le cerveau, les abcès peuvent s'ouvrir en dehors de l'organe, dans les séreuses environnantes. Le pus se forme sous l'influence du développement des germes banaux apportés par l'Amibe (aérobies et anaérobies).

DYSENTERIE AMIBIENNE EXPÉRIMENTALE.

Le chat, le chien, le singe peuvent, dans certaines conditions, contracter la dysenterie amibienne expérimentale; le jeune chat est assurément l'animal le plus sensible; le chat adulte est plus résistant. Les rongeurs sont généralement considérés comme réfractaires. Chatton cependant a réussi à infecter le cobaye.

Pour la réaliser, on peut se servir des selles ou de pus d'abcès du foie, contenant des Amibes vivantes, ou des mêmes produits desséchés contenant des kystes.

Technique. — *Injection intrarectale.* — A l'aide d'une pipette mousse, on introduit dans le rectum d'un jeune chat 0cc,5 de selles dysentériques ou de pus hépatique. L'injection d'une quantité plus grande risque de provoquer l'intolérance rectale, auquel cas l'animal rejette le produit injecté, et l'inoculation reste négative.

Ingestion. — On mélange des selles contenant les parasites à du hachis de viande, le chat l'ingère très facilement. L'inoculation réussit d'autant mieux que le produit amibifère contient des kystes qui résistent à l'action nocive du suc gastrique.

Symptômes et lésions. — Chez le chat, deux à trois jours après l'inoculation ou l'ingestion, l'animal présente de la diarrhée muqueuse ou mucoso-sanglante; dans les selles, on observe des Amibes mobiles, gorgées de globules rouges. Les jours suivants,

les symptômes s'exagèrent, puis le chat devient abattu et triste ; son poil se hérisse. Il finit par succomber le dixième ou le quinzième jour.

A l'autopsie, on constate, au niveau du gros intestin, les lésions caractéristiques de la dysenterie amibienne humaine, débutant par la nécrose, se continuant par des abcès et des ulcères en bouton de chemise ; à leur niveau, les Amibes sont facilement décelables.

Chez certains chats adultes qui guérissent spontanément de leur dysenterie, on a pu constater l'existence d'abcès du foie, où les Amibes fourmillent comme dans l'hépatite suppurée humaine.

Chez le cobaye, l'injection intrarectale d'Amibes végétatives, comme aussi l'ingestion de kystes mûrs détermine des lésions indiscutables du cæcum, mais sans apparition du syndrome dysentérique. Les altérations constatées consistent en réactions hyperplasiques, épithéliales et conjonctives (Chatton).

AMIBE VULGAIRE DU COLON (*Entamœba coli*).

Entamœba coli est un hôte banal de l'intestin ; elle ne possède aucun pouvoir pathogène. L'inoculation intrarectale ou l'ingestion de selles qui la véhiculent ne provoque aucun phénomène morbide.

Comme l'amibe pathogène, *Ent. coli* se montre sous l'aspect d'une forme végétative et d'une forme enkystée.

Forme végétative.

La forme végétative d'*Ent. coli* se présente sous l'aspect d'une masse protoplasmique de dimensions variant généralement de 10 à 50 μ (Casagrandi et Barbagallo) ; elle est le plus habituellement de 20 à 25 μ ; mais les résultats des mensurations sont tellement variables d'une amibe à l'autre que la taille ne peut servir de base au diagnostic.

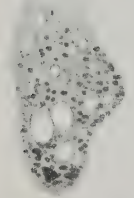


Fig. 323. — *Ent. coli* à l'état frais.

A l'état de repos, il est impossible de constater une différence entre un endo et un ectoplasme. Mais à l'occasion des mouvements très lents dont elle est l'objet, la distinction est possible ; on perçoit en effet la formation de pseudopodes de forme très variable : il s'agit tantôt de simples points assez limités, tantôt de hernies semi-sphériques ayant comme base toute la largeur de l'amibe.

L'endoplasme constitue la majeure partie du parasite vivant, même quand il est en mouvement. Il est granuleux et contient des vacuoles (non pulsatiles) variant de 1 μ à des dimensions dépassant celles du noyau. Ces vacuoles peuvent se réunir pour se séparer

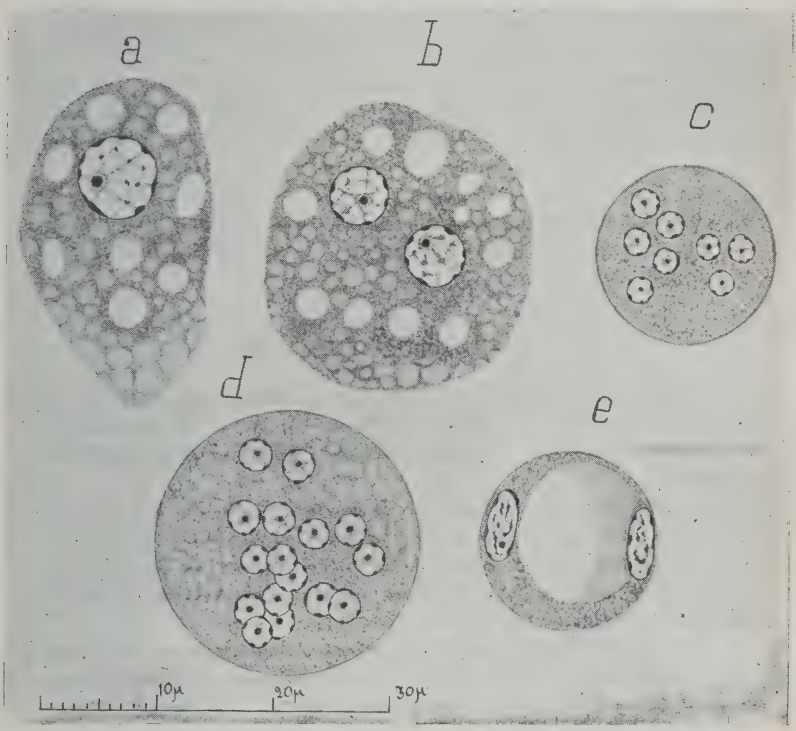


Fig. 324. — Formes mobiles et kystes d'*Ent. coli* après coloration (Mathis).

a. Forme végétative; *b*. Forme végétative à deux noyaux ; *c*. Kyste gamogonique (8 noyaux) ; *d*. Kyste schizogonique à 16 noyaux ; *e*. Kyste vacuolaire à 2 noyaux.

ensuite, leur aspect général changeant de seconde en seconde.

Ent. coli peut contenir des corps étrangers : bactéries, levures, leucocytes ou simplement noyaux leucocytaires, débris de cellules épithéliales intestinales, parfois, mais rarement, des hématies. D'après Hartmann, les bactéries sont beaucoup plus nombreuses que chez *Ent. tetragena*.

Le noyau est nettement visible à l'état frais ; en certains cas,

cependant, on ne peut le percevoir. Il se présente comme une sphère régulière, parfois ovalaire, et peut, en certaines circonstances, surtout à l'occasion des mouvements de l'endoplasme, se trouver serré contre la limite de ce dernier et de l'ectoplasme.

Tous ces détails de structure sont plus facilement perceptibles sur les préparations colorées. On emploie les mêmes méthodes que pour la coloration d'*Ent. dysenteriæ*.

Le cytoplasma ne montre aucune autre particularité nouvelle à signaler. L'examen du noyau montre la chromatine répartie dans la membrane nucléaire, contre sa face interne et au niveau du caryosome; ce dernier est assez volumineux et pourvu d'un centriole. A noter que, contrairement à ce qu'on observe chez *Ent. tetragena*, le caryosome est excentrique et n'est pas entouré d'une zone claire; enfin la chromatine se trouve encore disséminée entre le caryosome et la membrane nucléaire.

Formes enkystées (kystes).

Les kystes d'*Ent. coli* sont différents de ceux d'*Ent. dysenteriæ*. Comme ces derniers, les kystes mûrs, en voie de développement et en dégénérescence, se rencontrent dans les selles en proportion variable.

Les *kystes mûrs* ont les dimensions suivantes : de 16μ,5 à 19μ,5 à l'état frais; de 14μ,5 à 17 μ après fixation et coloration.

Ils possèdent le plus généralement *huit noyaux* de 2μ,5 à 3 μ.

Cependant, d'après les recherches de Mathis et Mercier, il existerait deux variétés de ces kystes :

a. Des kystes de 14 et de 15μ,5 à protoplasma grenu très finement alvéolaire, et un nombre de noyaux jamais supérieur à huit. De cette catégorie, les uns (14 μ) seraient des microkystes, les autres (15μ,5) des macrokystes ; ils seraient de sexualité différente; Mathis et Mercier supposent qu'après ingestion ils donnent naissance à de petites amibes qui copuleront deux à deux. Ce sont des *kystes gamogoniques*, provenant d'amibes uninucléées.

b. Des kystes de 17 μ en moyenne, mais compris entre 14 et 26 μ, pourvus d'une membrane d'enveloppe plus mince, munis habituellement de huit, mais parfois aussi de seize noyaux. Le cytoplasma a une structure largement alvéolaire et contient fréquemment de grandes vacuoles. Ces kystes proviendraient d'amibes végétatives uni ou multinucléées. D'après Mathis et Mercier, autour de chaque noyau de ces kystes, s'individualisent de petites masses protoplasmiques aboutissant à la formation de petites amibes qui s'échappent,

et évoluent directement vers les formes végétatives adultes, sans présenter le phénomène de copulation qu'ils admettent pour les petites amibes issues des kystes gamogoniques. Ce sont des *kystes schizogoniques*. Ces kystes sont assez difficiles à distinguer, à l'état frais, des kystes gamogoniques mûrs. Cependant les préparations fixées au sublimé alcoolo-acétique et traitées par l'hématoxyline ferrique-éosine permettent de bien les caractériser.

Quoi qu'il en soit, ces kystes sont *dépourvus de chromidium*. Toutefois sur des préparations colorées, on peut observer des amas irréguliers, plus ou moins sidérophiles, ou de longs filaments flexueux ou aciculés qui donnent l'apparence des bâtonnets chromidiaux. Ces enclaves cependant se présentent sous la forme d'amas à contours irréguliers, ne se colorant pas d'une façon uniforme par la laque ferrique : la partie centrale est bien colorée en noir, mais les bords n'ont qu'une teinte grisâtre; leur aspect général rappelle un peu celui que donneraient des amas de copeaux (Mesnil). Ces figures sont bien différentes des bâtonnets oblongs, homogènes, à contours nets des kystes d'*Ent. dysenteriæ*. Elles sont dues, d'après Mathis et Mercier, à la « fusion de granulations qui sont apparues dans le protoplasma sans qu'il y ait formation de vacuoles » (Mathis et Mercier). Ce pseudo-chromidium ne se montre pas dans les préparations bien différenciées. Pour distinguer ces enclaves des bâtonnets sidérophiles des kystes d'*Ent. dysenteriae*, les auteurs précédent sont proposé de les désigner sous le nom de « *plages sidérophiles* ».

Les *kystes en voie de développement* peuvent présenter trois, cinq, six, sept noyaux, ces chiffres correspondant au défaut de synchronisme dans la bipartition des noyaux à partir du stade binucléé.

Enfin, on connaît aussi des *kystes en dégénérescence*, kystes vacuolaires avec un, deux, trois, quatre noyaux, les kystes dégénérés d'*Ent. dysenteriæ* n'en ayant jamais plus de deux.

Cycle évolutif d'Entamœba coli.

D'après Grassi, Casagrandi et Barbagallo, Schaudinn, *Ent. coli* se multiplie sous plusieurs modes :

Dans l'intestin, elle reproduit par *division simple* et par *division multiple* ou *schizogonie*; en ce dernier cas, une amibe donne naissance, par division du noyau et du cytoplasma, à huit amibes filles.

Quand une amibe va s'enkyster, elle expulse les corps étrangers qu'elle s'est incorporés ; puis le cytoplasma se rétracte et s'entoure

d'une membrane sèmi-gélatineuse. Le noyau subit alors deux stades évolutifs :

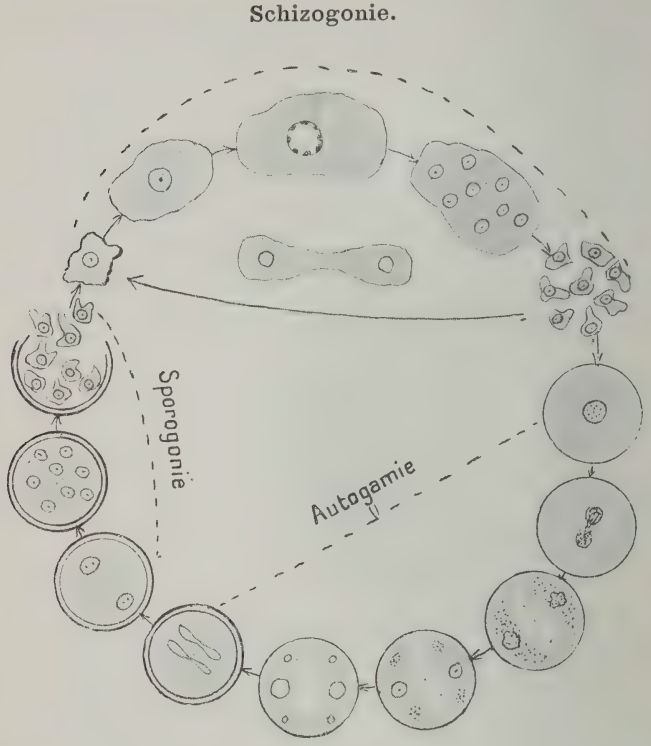


Fig. 325. — Cycle d'évolution d'*Amœba coli* (d'après Schaudinn).

Il prend la forme d'une haltère et se divise par des phénomènes d'amitose ; puis les noyaux se rapprochent du centre et se divisent en deux ; les quatre noyaux ainsi nés s'écartent deux par deux et arrivent au pôle opposé du pôle primitif ; à cette époque, la membrane gélatineuse devient résistante ; les deux noyaux d'origine différente se fusionnent. De cette copulation résulte un nouveau noyau qui se divise en quatre, puis en huit noyaux secondaires. Chacun d'eux, lors de l'éclosion du kyste, donne une amibe nouvelle. D'après Hartmann et Whitmore, les huit noyaux se formeraient à la suite de divisions successives et non par division multiple.

TABLEAU RÉCAPITULATIF DES CARACTÈRES DIFFÉRENTIELS D'ENT. DYSENTERIÆ ET D'ENT. COLI.

Ent. dysenteriæ.		Ent. coli.
Forme végétative.		Forme unique.
Type tetragena.	*Type histolytica.*	
20 à 25 μ de diamètre.	25, 40 à 50 μ.	
Distinction peu nette entre endo et ectoplasme.	Distinction nette entre endo et ectoplasme.	Distinction peu nette entre endo et ectoplasme.
Mobilité faible.	Grande mobilité.	Mobilité faible.
Absence d'hématies.	Présence d'hématies.	Absence d'hématies.
Noyau visible à l'état frais.	Noyau peu visible à l'état frais.	Noyau visible à l'état frais.
Aspect en roue.	Pas d'aspect en roue.	Pas d'aspect en roue.
Caryosome central	Caryosome central.	Caryosome le plus souvent excentrique.
Kystes.		
Dimensions moyennes : 12μ,5 à 14 μ.		Dimensions moyennes ; 16μ,5 à 19μ,5.
Noyaux : 4.		Noyaux : 8 et davantage.
Chromidium : *présent*.		Chromidium : *absent*.
Kystes sexués (gamogoniques).		Kystes sexués (gamogoniques) et asexués (schizogoniques).
Reproduction.		
Division simple. Pas de schizogonie.		Division simple et division multiple (schizogonie).

AUTRES AMIBES.

Amibes intestinales. — *Ent. limax*. — Cette amibe est généralement en nombre très restreint dans les fèces ; aussi a-t-on peu de chances de la rencontrer ; néanmoins l'erreur peut être commise.

Elle est de faibles dimensions (15 μ) et présente des mouvements peu accusés : l'ectoplasme est rarement visible, l'endoplasme ne contient pas d'hématies ; on y observe une vacuole contractile ainsi qu'un noyau très nettement apparent, prenant l'aspect d'un volumineux corpuscule réfringent entouré d'un halo clair.

Après coloration on la reconnaît plus particulièrement à la structure de ce noyau apparaissant sous la forme d'un gros bloc chromatique, fortement coloré par la laque ferrique, et entouré par

une zone incolore. Dans le cytoplasma, on trouve fréquemment un gros bacterium en chaîne dont l'amibe fait sa nourriture (fig. 326).

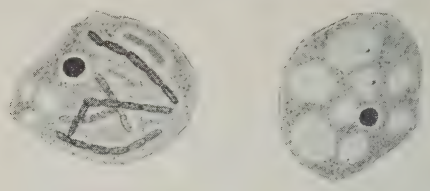


Fig. 326. — *Entamœba limax* (d'après Ed. Chatton).

Les kystes sont rares : de 9 à 11 μ de diamètre, ils sont pourvus d'une enveloppe double, épaisse, à contour plus ou moins polygonal; enfin ils ne possèdent qu'un noyau compris dans un protoplasma très granuleux.

Ent. nana. — Ce parasite, qui a été confondu avec *Ent. limax*, mesure de 6 à 12 μ; le protoplasma, très vacuolaire, ne possède cependant pas de vacuole contractile ; il émet des pseudopodes mousses et hyalins, mais se meut assez paresseusement et meurt rapidement. Le noyau, difficilement perceptible à l'état vivant, se voit nettement sur les préparations colorées : on y distingue une membrane nucléaire nettement accusée, ainsi qu'un caryosome volumineux, irrégulier et situé excentriquement.

Les kystes sont sphériques avec 7 à 8 μ de diamètre, ou ovalaires avec un grand axe de 8 à 10 μ. Vus à l'état frais, ils semblent ne posséder aucune structure. Après coloration, un, deux ou quatre noyaux apparaissent, analogues à ceux de l'amibe végétative. Entre les noyaux on perçoit dans le cytoplasma des granules réfringents et une substance que Dobell et Jepps ont rapportée au glycogène.

Amœba buccalis. — *Amœba buccalis* vit en saprophyte dans la cavité buccale ; elle se trouve dans les dents cariées et la salive de sujets atteints de cancer de la bouche ou de la langue, Elle se rapproche par sa morphologie à la fois d'*Entamœba h stolytica* et d'*Entamœba coli* ; elle leur est intermédiaire.

Elle présente une division nette de son protoplasma en endo et ectoplasme ; le noyau, nettement visible, est entouré d'une enveloppe épaisse, dans l'endoplasme on perçoit une vacuole contractile.

On ignore son mode de reproduction.

Amœba maxillaris. — Cette dernière a été décrite par Kartulis, qui l'a observée dans le pus d'une ostéomyélite maxillaire; elle présente une grande analogie avec *Entamœba histolytica* ; même séparation de l'endo et de l'ectoplasme, même contenu de l'endoplasme (débris cellulaires,

hématies), même mobilité ; des pseudopodes, les uns sont mousses, les autres pointus ; le noyau est plat et entouré d'une zone claire.

Le mode de reproduction est inconnu.

Amæba urogenitalis. — Sous ce vocable, divers auteurs ont décrit plusieurs amibes développées le plus souvent dans la vessie, et assez analogues à *Entamœba histolytica*. On est encore mal renseigné sur leur véritable nature.

DIAGNOSTIC MICROSCOPIQUE DE L'AMIBIASE.

Le diagnostic de l'amibiase doit être fait dans les diverses manifestations pathologiques de cette infection : amibiase intestinale, hépatique, etc.

Amibiase intestinale.

Dans l'amibiase intestinale, le diagnostic se résume dans la constatation de l'amibe dysentérique dans ses deux formes végétatives connues et sa forme enkystée; il comporte implicitement la différenciation d'avec les autres amibes et les parasites qui peuvent voisiner avec elle.

Recherche des formes végétatives d'Ent. dysenteriæ. — Rappelons tout d'abord que, dans l'amibiase intestinale aiguë qui se révèle par le syndrome dysentérique classique, les déjections muco-sanguinolentes classiques contiennent *Ent. histolytica*, associée ou non à *Ent. tetragena*. Les kystes qui peuvent s'y rencontrer, de préférence vers le déclin de l'affection, ne se trouvent que dans les parties fécaloïdes.

Dans la dysenterie amibienne chronique, c'est-à-dire dans l'intervalle des crises qui se greffent sur le fond de chronicité, *Ent. histolytica* n'est pas perceptible ; la forme végétative n'est représentée que par *Ent. tetragena*.

En ce cas la constatation de cette dernière n'est pas toujours aisée. Pour la faciliter et faire apparaître aux yeux de l'observateur les amibes que leur nombre parfois très réduit risque de laisser passer inaperçues, Noc a imaginé un procédé qui consiste à administrer préalablement au malade :

1° Un lavement évacuateur de 500 grammes d'eau bouillie.

2° Après effet, un lavage en instillation (durée 30 minutes) de la solution suivante :

Thymol.....	0gr,50
Eau bouillie.....	1000 grammes.

Cette manœuvre provoque l'issue de mucosités où se trouvent un assez grand nombre d'*Ent. tetragena* que l'on peut examiner à loisir.

Elle permet de constater le parasite en des cas où il paraissait absent.

Examen à l'état frais. — L'examen à l'état frais suffit habituellement pour assurer le diagnostic.

Dans une selle *fraîchement émise*, et non mélangée d'urine, prélever à l'aide d'une pipette ou d'une anse de platine un flocon muqueux.

Déposer sur une lame ; recouvrir d'une lamelle. Observer ainsi à l'état frais avec un objectif 6.

Outre les cellules épithéliales, les leucocytes, le plus souvent éosinophiles (Billet), on reconnaît facilement les Amibes dysentériques. Elles sont disséminées uniformément dans la préparation ou réunies sous forme de nids plus ou moins abondants (1).

Si *Ent. histolytica* est en cause, on la reconnaîtra facilement à la présence de corps amiboïdes, se déplaçant activement, émettant des pseudopodes avec vivacité, avec la différenciation classique en ectoplasme et endoplasme, ce dernier contenant un plus ou moins grand nombre d'hématies (fig. 327). Par ces caractères, elle se distingue aisément d'*Amœba coli* dont la différenciation endo et ectoplasmique est bien moins marquée, dont les mouvements sont beaucoup plus lents, et qui ne contient pas de globules rouges.

Ent. tetragena que l'on peut constater à côté d'*Ent. histolytica* se sépare également de cette dernière par son peu de mobilité et l'absence d'hématies ; toutes deux présentent cependant des dimensions équivalentes. Ce seul caractère n'est toutefois pas suffisant pour éviter de la confondre avec *Ent. coli*, qui, à l'état frais, lui ressemble assez étroitement ; l'aspect du noyau est seul capable de les différencier, mais il ne peut être nettement déterminé que sur préparations colorées.

Ces dernières sont le plus souvent inutiles, car la constatation d'*Ent. histolytica* suffit pour assurer le diagnostic.

Cependant, les selles ne peuvent pas toujours être examinées rapidement après leur émission, auquel cas les amibes peuvent avoir perdu leur mobilité. On peut essayer de réveiller les mouve-

(1) Il faut se rappeler que dans un fragment de mucus, ces parasites peuvent être très nombreux, mais aussi très rares. La recherche en est alors malaisée. En ce cas, recourir au procédé de H. Vincent, qui les fait reconnaître rapidement :

Déposer sur les bords de la lamelle une goutte de solution aqueuse de bleu de méthylène à 1 p. 100 : tous les éléments autres que les Amibes (leucocytes, cellules épithéliales, etc.) se colorent immédiatement en bleu ; au contraire, les Amibes restent tout d'abord incolores et tranchent par leur aspect clair sur le fond bleu de la préparation. Puis leurs mouvements se ralentissent, cessent, et le parasite finit par se colorer.

ments disparus en chauffant légèrement la préparation, en utilisant soit la platine chauffante, soit la ch leur produite par un tampon de coton imbibé d'alcool enflammé que l'on porte sur la face inférieure de la préparation.

Si ce procédé ne suffit pas, il serait imprudent de poser une affirmation catégorique. Force est alors de recourir aux préparations colorées, qui, si les selles ont été émises quelques heures seule-

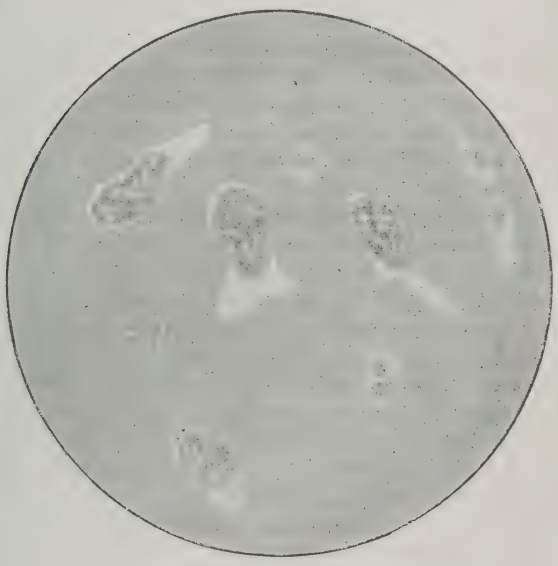


Fig. 327. — Examen à l'état frais d'un flocon de mucus de dysenterie amibienne.

ment auparavant, pourront permettre de déceler encore des formes végétatives.

Examen sur préparations colorées. — Faire des étalements sur lamelles et fixer par un des procédés précédemment indiqués ; rincer à l'eau, passage par la série des alcools ; laver à l'eau distillée et colorer à l'hématoxyline ferrique d'Heidenhain, comme il a été dit plus haut.

On reconnaît les formes du type *histolytica* aux caractères suivants :

Cytoplasme teinté en rose, à structure alvéolaire, contenant des hématies ; un noyau sphérique, limité par une mince membrane et pauvre en chromatine.

Ent. tetragena se reconnaît surtout à l'aspect particulier de son noyau : aspect en roue précédemment décrit, avec le caryosome central entouré d'une zone claire ; au centre de ce dernier, quand la différenciation a été bien poussée, on perçoit le centriole ayant fixé électivement la laque ferrique.

De plus le cytoplasme ne contient pas d'hématies.

Toutefois, tous les échantillons du type *tetragena* ne paraissent pas toujours identiques en ce qui concerne l'aspect du noyau, qui se modifie au cours de l'évolution de la chromatine et peut subir des remaniements lors de la division et de l'enkystement. « Aussi ne faut-il pas s'attendre à trouver chez toutes les formes du type *tetragena* un aspect identique du noyau, et ce n'est souvent qu'après un examen très prolongé de préparations parfaitement réussies que l'on arrive à déceler des individus possédant un noyau en roue. » (C. Mathis).

Des préparations colorées permettent aisément de distinguer *Ent. histolytica* d'*Ent. coli*, dont les dimensions sont plus petites et qui ne contient aucun globule rouge. Toutefois *Ent. coli* ne peut toujours être séparée sûrement d'*Ent. tetragena*, car, s'il est exact d'affirmer que son caryosome est excentrique, ce caractère n'est pas constant ; on peut donc parfois les confondre. La différenciation de l'une et de l'autre ne peut, en ce cas, être menée à bien qu'après l'*étude des kystes*. Ces derniers peuvent être décelables même avant la fin de la crise dysentérique, mais à condition de les rechercher, non plus dans les matières mucoso-sanguinolentes, mais dans les parties fécales qui accompagnent fréquemment les précédentes. Enfin cet examen contribue encore à différencier l'Amibe pathogène des autres Amibes intestinales qu'on peut être appelé à rencontrer, et qui sont étrangères à la dysenterie amibienne.

Recherche des kystes amibiens. — La recherche des kystes amibiens a une valeur diagnostique incontestable (Ravaut et Kronulitsky) ; elle peut se faire dans un fragment de selles prélevé à l'aide d'une anse de platine, mais ce procédé ne permet l'examen que sur une partie infinitésimale de matières ; il ne peut mettre en évidence qu'un nombre très restreint de kystes disséminés dans toute une préparation ; la recherche est dès lors toujours pénible, et souvent infructueuse ; elle nécessite des prélèvements et des examens multiples dont le résultat peut rester négatif. Quand elle est positive, elle ne porte donc que sur de rares échantillons, souvent atypiques ; il devient dès lors difficile de se faire une opinion sur leur nature.

Mathis estime même que, dans les conditions de la pratique, on

arrive plus facilement à faire le diagnostic d'après l'examen des matières fécales que d'après l'examen des selles dysentériques, qui sont généralement envoyées au laboratoire dans des conditions défectueuses : mélange avec l'urine, dans des vases ayant contenu des antiseptiques, envois trop tardifs, etc. ; les formes végétatives sont dès lors méconnaissables. Les matières fécales, au contraire, peuvent être examinées assez longtemps après l'émission, les kystes pouvant être décelés après deux à trois jours.

On a tenté de provoquer une issue plus abondante des kystes par une purgation saline, ou, comme l'a réalisé Ravaut, par une injection intraveineuse préalable de 1 à 4 centigrammes de cyanure de mercure. D'autres auteurs préfèrent utiliser des méthodes capables de concentrer sous un petit volume les kystes compris dans une certaine masse de matières.

Concentration des kystes dans les selles. — Parmi les procédés qui ont été imaginés à cet effet, les deux suivants sont à retenir :

1° Procédé de J. W. Cropper et Harold Row. — On prélève un ou plusieurs grammes de matières fécales que l'on agite pendant une demi-heure avec 30 centimètres cubes d'eau physiologique par gramme pour obtenir un liquide aussi homogène que possible.

a. Verser la dilution obtenue dans un entonnoir à séparation et additionner de 10 à 20 p. 100 du volume d'éther, de préférence d'éther méthylique. Agiter pendant trente secondes et laisser reposer une à deux minutes.

b. Soutirer dans une éprouvette le liquide sous-jacent qui contient les kystes : laisser reposer pendant une minute les particules volumineuses; décanter.

c. Centrifuger deux à trois minutes à faible vitesse pour obtenir le dépôt des kystes avec le minimum de matières fécales.

Il ne reste plus qu'à examiner le culot ainsi formé ; d'après les auteurs, il contient environ quinze fois plus de kystes que la matière fécale primitive.

2° Procédé de Carles et Barthélemy. — Placer dans un verre de 200 centimètres cubes la valeur de 20 à 25 grammes de matières. Délayer et triturer à l'aide d'un agitateur avec une solution d'eau physiologique formolée à 10 p. 100, jusqu'à obtention d'une émulsion homogène.

a. Passer le liquide ainsi obtenu sur un tamis de laiton, à mailles d'un millimètre ou bien sur une toile métallique placée comme un filtre sur un entonnoir.

b. Filtrer une deuxième fois sur un tamis de soie, disposé de la même façon, sans pli, sur un entonnoir cannelé.

c. Centrifuger pendant une minute à 1 000 tours. Rejeter le liquide surnageant. Conserver le culot.

d. Diluer le culot, dans le tube, avec une solution citrique à 12 p. 100, formolée à 2 p. 100. Ménager à la surface 1 à 2 centimètres que l'on comble avec de l'éther sulfurique. Agiter énergiquement, manœuvre qui détache le culot et émulsionne l'éther.

e. Centrifuger une deuxième fois à 1 000 tours pendant trente secondes. L'éther se porte à la surface en dissolvant les graisses; il entraîne en même temps des particules qui forment un voile à la limite de séparation de l'éther et du liquide sous-jacent.

f. Avec une effilure de pipette fermée, dilacérer ce voile pour mettre en liberté des kystes qui ont pu être englobés.

g. Centrifuger une troisième fois pendant trente secondes. Rejeter brusquement le liquide et ne conserver que le culot qui contient les kystes à rechercher.

Ce procédé d'enrichissement permet d'ailleurs de concentrer en même temps les œufs des parasites intestinaux (ascaris, trichocéphale, etc.) et divers flagellés dont il peut ne pas être inutile de connaître la présence simultanée.

Prélever alors une parcelle du culot, et la soumettre à l'examen microscopique, soit à l'état frais, soit après coloration.

Examen à l'état frais. — Prélever une parcelle du culot, la diluer dans une goutte d'eau physiologique déposée sur une lame; recouvrir d'une lamelle; la préparation doit être transparente. Observer à un grossissement de 250 à 400 diamètres.

Les kystes se présentent sous l'aspect de petites sphères légèrement granuleuses, de teinte claire, tranchant sur le fond plus foncé de la préparation.

Examiner ensuite avec un fort objectif à sec ou à immersion. Utiliser aussi un oculaire micrométrique dont on a calculé la valeur de chaque division par rapport aux objectifs employés.

Bien observer :

1° la dimension des kystes;

2° le nombre de noyaux dans les kystes mûrs;

3° la présence des bâtonnets chromidiaux réfringents.

Telles sont les épreuves permettant d'asseoir un diagnostic différentiel entre les kystes d'*Ent. dysenteriæ* et ceux d'*Ent. coli.*

Il faut partir de ce principe que :

a. Un kyste de 12 μ, 5 à 14 μ, pourvu de quatre noyaux et de bâtonnets réfringents, provient d'*Ent. dysenteriæ.*

b. Un kyste de dimensions supérieures à 15 μ, muni de huit noyaux (et davantage) et dépourvu de bâtonnets réfringents doit être rapporté à *Ent. coli.*

Ce simple examen à l'état frais ne permet pas toujours d'observer nettement les détails de structure des kystes.

Aussi est-il préférable d'employer un procédé capable de mieux les mettre en évidence.

Mathis conseille de suivre l'une des deux techniques suivantes :

1° Diluer le prélèvement effectué dans une goutte de solution de lugol, qui permet de mieux voir et de mieux observer les kystes.

2° Étaler en couche mince sur une lame, et, avant dessiccation,

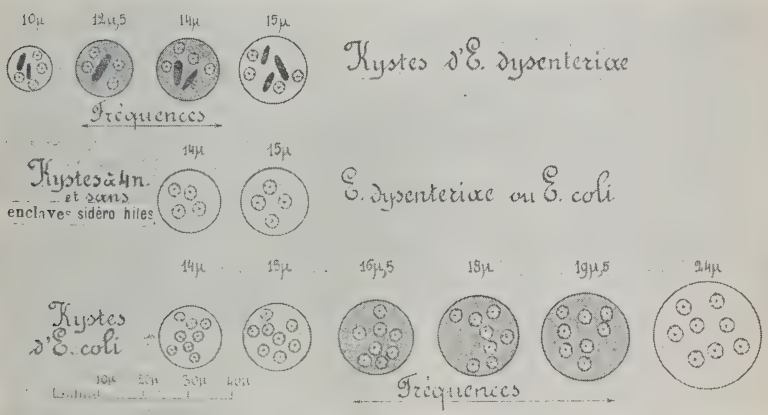


Fig. 328. — Kystes d'*Ent. dysenteriæ* et d'*Ent. coli* (demi-schématique). Dimensions indiquées d'après des mesures prises sur le vivant (Mathis).

exposer pendant trente secondes aux vapeurs d'une solution d'acide osmique à 1 p. 100. La préparation étant toujours humide, verser une goutte de solution aqueuse d'hématoxyline à 1 p. 200.

Recouvrir d'une lamelle. Observer.

Si les détails nécessaires au diagnostic ne sont pas encore suffisants, employer alors les préparations colorées.

Examen sur préparations colorées. — **Procédé d'Heidenhain.** — Fixer et colorer comme il a été dit plus haut (p. 929). Mais cette méthode est lente et exige environ vingt-quatre heures.

Procédé de Walker. — Aussi C. Mathis conseille-t-il le procédé suivant, dû à Walker, qui donne des résultats plus rapides et suffisants :

Fixer au sublimé alcoolo-acétique pendant dix minutes environ ; laver à l'eau distillée.

Colorer de trois à cinq minutes dans le colorant suivant :

Hématoxyline	1 gramme.
Solution aqueuse d'alun ammoniacal saturée	100 cent. cubes.
Eau distillée	300 —
Thymol	Un fragment.

(Cette solution doit être préparée une quinzaine de jours à l'avance).

Laver à l'eau distillée et déshydrater par la série des alcools. Xylol. Monter au baume sous lamelle très mince.

Rappelons qu'avec ces procédés de coloration, les bâtonnets sidérophiles sont teintés en noir et sont de forme oblongue, à extrémités mousses et de structure homogène et compacte.

Interprétation des résultats. — Le diagnostic, basé sur l'observation des trois caractères essentiels précédemment énumérés, ne semble présenter aucune difficulté. Quand ils sont nets et précis, l'affirmation s'impose. Mais il n'en est pas toujours de même, et en bien des cas, l'un des caractères venant à manquer, il devient difficile de se prononcer, car tous les auteurs n'attribuent pas la même valeur à chacun de ces détails de structure.

Les kystes d'*Ent. dysenteriæ*, dit-on, mesurent de 12 μ, 5 à 14 μ. Mais certains sont plus petits et d'autres de dimensions plus grandes, jusqu'à 15 μ. Ceux d'*Ent. coli*, habituellement de 16 à 20 μ, peuvent de même ne mesurer que 13 μ, et d'autres mesurer jusqu'à 33 μ (Dobell et Jepps), voire même 38 μ (Wenyon et O'Connor). Ce caractère n'aurait donc, dans la circonstance, qu'une valeur toute relative.

La forme enkystée d'*Ent. dysenteriæ* se caractérise par la présence de quatre noyaux et n'en possède jamais plus; telle est, à part de très rares exceptions, la formule généralement admise par tous. Les kystes d'*Ent. coli* en possèdent huit ou davantage. Il est vrai qu'avant d'arriver à ce stade octonucléé, il y a place pour un stade quadrinucléé dont la constatation devient alors troublante.

Mais la présence nette de bâtonnets sidérophiles permet d'attribuer les kystes qui en sont munis à *Ent. dysenteriæ* et par conséquent d'éliminer *Ent. coli*, à condition toutefois qu'il s'agisse de « bâtonnets à forme oblongue, à contours nettement définis, à extrémités mousses et possédant une structure homogène et compacte » (Mathis), et non d'apparences de bâtonnets comme on en rencontre parfois chez *Ent. coli*. Rappelons que les kystes de cette dernière peuvent présenter des enclaves sidérophiles, mais sous la forme, non de bâtonnets, mais d'amas ressemblant plutôt à des copeaux (Mesnil) à contours irréguliers, d'aspect non homogène

(centre noir, bords à teinte grisâtre), n'ayant « ni le mode de formation, ni la forme presque géométrique, ni la structure compacte » (Mathis) des bâtonnets sidérophiles.

L'embarras devient plus grand quand on se trouve en présence de kystes uninucléés, ou binucléés ou quadrinucléés sans bâtonnets sidérophiles.

Il peut donc arriver que, l'examen microscopique ne pouvant déterminer à quelle Entamibe appartiennent les kystes observés, le diagnostic soit impossible. En ce cas, ne pouvant faire état des formes atypiques, il est prudent de le réserver et de demander un nouvel échantillon des selles dans les jours qui suivent.

D'autre part enfin, il faut se rappeler que l'élimination des kystes peut être intermittente; il existe des chasses de kystes comme il existe des chasses d'amibes. Il en résulte qu'un seul examen négatif ne peut autoriser à éliminer le diagnostic d'amibiase, et que souvent il est nécessaire de répéter les examens à plusieurs jours d'intervalle.

Erreurs à éviter. — Il importe de ne pas confondre les kystes précédents, soit avec les corpuscules totalement différents des amibes enkystées, soit avec les kystes provenant d'autres protozoaires; des erreurs ont été commises en effet par des observateurs peu exercés. C'est ainsi que, dans les préparations à l'état frais, on évitera de prendre pour des kystes certains *leucocytes* ayant des dimensions à peu près analogues, une forme arrondie et dont les noyaux peuvent être caryolysés. Toutefois, ils ne possèdent pas de double paroi; de plus leur protoplasma contient des granulations qui n'existent pas dans l'intérieur des kystes.

Les *globules de graisse* peuvent parfois simuler ces derniers, en raison de leur aspect circulaire, de leur réfringence et d'une apparence de double paroi. Mais le déplacement de la vis micrométrique permet de se rendre compte de l'absence de cette dernière ; de plus ils ne contiennent aucun noyau.

L'erreur peut encore être commise avec *Blastocystis hominis*, parasite végétal assez commun, parfois abondant dans les selles. Ils se présentent sous l'aspect de corps allongés ou étirés à la manière d'un biscuit ou encore de corps sphériques ayant une certaine ressemblance, mais superficielle, avec les kystes (fig. 329).

L'examen à l'état frais les montre entourés par une membrane délicate ayant des dimensions de 10 à 15 μ, se déformant facilement quand, entraînés par un courant dans la préparation, ils viennent se heurter à un obstacle. De plus, leur cytoplasma consiste dans une mince couche périphérique qui borde la membrane d'enveloppe et

contient des noyaux; le centre est constitué par une masse arrondie, réfringente et anhiste. Cette structure spéciale différencie donc nettement ce parasite des kystes amibiens.

Certains *Saccharomyces* se montrent parfois sous des formes qui, à un examen superficiel, peuvent en imposer pour l'existence de kystes pathogènes. Après s'être isolés par bourgeonnement, ils prennent un aspect globuleux avec une ou quatre spores rappelant les noyaux et les bâtonnets des kystes. Ces formations ont un diamètre

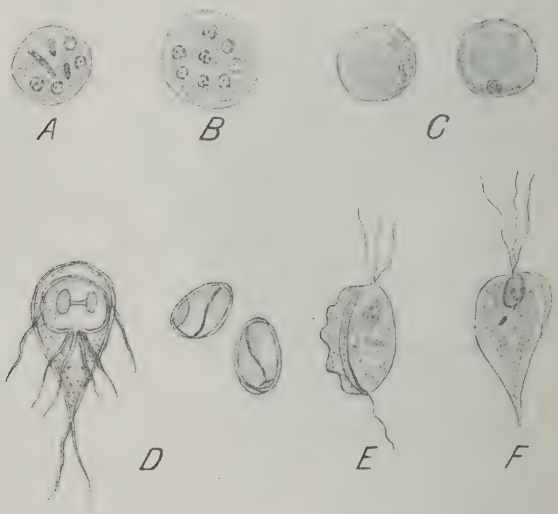


Fig. 329.

A, kyste d'*Ent. dysenteriæ*; B, kyste d'*Ent. coli*; C, *Blastocystis hominis* à forme sphérique pouvant être pris pour des kystes amibiens; D, *Lamblia intestinalis* avec ses kystes; E, *Trichomonas intestinalis*; F, *Tetramitus Mesnili*.

de 18 à 20 μ, et se distinguent par la présence de vacuoles et d'un bourgeonnement caractéristique.

La distinction doit encore être faite avec les *kystes des autres amibes intestinales* dont la description a été exposée plus haut; de même aussi avec les kystes de certains flagellés qui voisinent souvent avec les kystes amibiens.

Les kystes de *Lamblia intestinalis*, flagellé que l'on est appelé à observer fréquemment soit seul, soit associé à des amibes intestinales, sont ovoïdes : 10 à 15 μ de long sur 8 à 9 μ de large. Vus en projection verticale, ils présentent une forme arrondie qui peut les faire confondre avec les kystes dysentériques, d'autant qu'ils con-

tiennent deux à quatre noyaux. Toutefois ces kystes ne sont pourvus que d'une enveloppe mince ; de plus les noyaux, très rapprochés les uns des autres, se trouvent situés dans la moitié antérieure du kyste : le cytoplasme, d'autre part, est sillonné par une ou plusieurs lignes recourbées qui sont dirigées selon le grand axe. La confusion n'est donc guère possible.

Toutefois, au cas où l'observateur aurait une hésitation, Mathis conseille de colorer un frottis, fixé par l'alcool absolu, avec le mélange bleu azur II éosine; le kyste se colore en bleu et les noyaux prennent une teinte rouge violacé.

Les kystes de *Prowazekia*, flagellés abondants dans les selles diarrhéiques, sont notablement plus petits que les kystes dysentériques : 5 à 7 μ, et sont pourvus d'une enveloppe mince et d'un seul noyau.

Les kystes de *Tetramitus Mesnili*, autre flagellé, sont ovalaires ou sphériques (7 à 10 μ) et sont munis, à une extrémité, d'une protubérance qui les fait ressembler à un citron; un seul noyau; de plus la chromatine se rassemble sous la membrane nucléaire à l'un des pôles, d'où l'aspect de chaton de bague; le cytoplasme renferme parfois un résidu de flagelle.

Amibiase hépatique, cérébrale, etc.

On peut enfin être appelé à faire, dans un but diagnostique, la recherche de l'Amibe dysentérique dans le pus des abcès hépatiques, pulmonaires, cérébraux, etc.

La technique est la même ; on recherche l'Amibe dans une gouttelette de pus, ou, de préférence, dans le produit de raclage de la paroi de l'abcès, où elle se trouve en plus grande abondance.

Quel que soit le produit à examiner, on peut compléter la recherche par l'examen de l'Amibe après coloration, en ayant soin d'employer les procédés de fixation qui ont été indiqués.

Rappelons ici que, dans ce cas, on ne trouve l'amibe pathogène que sous sa forme végétative : il n'existe pas de kystes ; bien plus, le parasite se montre sous la forme du type *histolytica*.

CHAPITRE LXXIII

HÉMATOZOAIRE DU PALUDISME

L'agent pathogène du paludisme est un Hématozoaire, découvert par Laveran, en 1880, dans le sang des paludéens qu'il observait alors à l'hôpital militaire de Constantine.

Cette découverte fut tout d'abord accueillie avec scepticisme, car on eut peine à prendre pour un parasite une forme amibienne si différente des germes que Pasteur avait étudiés. Des luttes sans nombre s'engagèrent entre Laveran et les savants italiens, mais le savant français devait triompher, et sa belle découverte fut confirmée par de nombreux observateurs, au nombre desquels il faut compter ceux qui, au début, se posaient en contradicteurs convaincus.

Ce n'est que beaucoup plus tard, en 1898, qu'une nouvelle notion, due à Ronald Ross, vint montrer que, pour être transmis de l'homme à l'homme, l'Hématozoaire du paludisme devait passer par un hôte intermédiaire, le moustique. Cette découverte fut le point de départ d'une série de nouvelles recherches fructueuses, qui firent connaître l'évolution complète du parasite et ses modes de reproduction.

GÉNÉRALITÉS.

MORPHOLOGIE.

Classification. — L'Hématozoaire du paludisme est un protozoaire appartenant à la classe des *sporozoaires télosporidés*, et au genre *Plasmodium* (*Hæmamœba*) de l'ordre des *Hémosporidées*. ce dernier étant voisin de ceux des Grégarines et des Coccidies.

Ce parasite affecte trois types différents que certains considèrent comme trois espèces distinctes : *Plasmodium vivax*, agent de la tierce bénigne; *Pl. malariæ* qui provoque la fièvre quarte; *Pl. præcox* ou *falciparum*, qui provoque la fièvre dite tropicale, ou tierce maligne, ou fièvre estivo-autumnale des auteurs italiens.

Cycle évolutif. — Ces trois types morphologiques présentent

des caractères évolutifs semblables; le cycle qu'ils parcourent est double; on connaît en effet (fig. 334) :

1° Un cycle *asexué* et *endogène* (*schizogonie*) qui s'effectue en totalité dans l'intérieur des hématies. Voici comment il s'opère :

Les parasites sont inoculés à l'homme par la femelle de certains moustiques (*Anopheles claviger*, *maculipennis*, *bifurcatus*, etc.), dans le corps desquels ils subissent une évolution identique; introduits dans l'organisme à la faveur de la piqûre, ils passent dans la circulation, puis s'attaquent aux hématies dans l'intérieur desquelles ils s'introduisent et se développent sous l'aspect d'une petite amibe arrondie que l'on désigne sous le nom de *schizonte*; quand elle s'accroît, cette amibe, mobile, émet des pseudopodes, devient *corps amiboïde*, et augmente de volume aux dépens du globule rouge parasité.

Au bout d'un certain temps, variable suivant le type envisagé, le schizonte se divise, et se montre sous l'aspect d'un corps arrondi, segmenté en huit, dix, douze, seize *mérozoïtes*, qui se disposent autour du centre de l'élément et donnent à ce dernier l'aspect d'une rosace; ce sont les *corps en rosace*, témoins de la schizogonie proprement dite. Quand ils sont parvenus à maturité, l'hématie parasitée éclate, puis le corps en rosace se dissocie et les mérozoïtes sont mis en liberté dans le sang circulant; chacun de ces derniers va atteindre un globule rouge et le cycle se renouvelle d'une façon identique.

Quand le cycle précédent s'est reproduit un certain nombre de fois, certains d'entre eux subissent une nouvelle modification morphologique : ils se transforment en corps arrondis dans le cas de *Pl. vivax* et de *Pl. malariæ*, falciformes dans le cas de *Pl. præcox* ou *falciparum*; ce sont les *gamètes*.

Ces gamètes, dont on connaît les éléments mâles et femelles, sont très résistants à la quinine, et peuvent persister des mois et même des années. Ils semblent donc se comporter comme de véritables formes de résistance; mais sous l'influence d'un facteur déprimant, la résistance de l'organisme se trouvant en déficience, le gamète sort de sa période de latence; de nouveaux schizontes se forment à ses dépens par bipartition du noyau primitif du gamète femelle en deux noyaux nouveaux : l'un reste indifférent, l'autre se segmente pour donner lieu à un corps en rosace, dont les mérozoïtes néoformés se désoudent et, une fois mis en liberté, vont parasiter des hématies. C'est le cycle classique de la schizogonie qui recommence. Cette évolution particulière rentre dans le cadre de la *parthénogénèse*, notion qui explique la production habituelle

des rechutes de paludisme, et la propriété que possèdent les gamètes d'entretenir ainsi la chronicité de la maladie.

Enfin ces gamètes, dont le rôle est assurément capital, interviennent encore dans l'évolution sexuée de l'Hématozoaire.

2° Un cycle *sexué* et *exogène* (*sporogonie*), expression d'une reproduction véritable s'effectuant uniquement dans le corps du moustique par copulation des gamètes.

Quand le moustique suce le sang d'un paludéen, il absorbe en même temps les éléments parasitaires qui s'y trouvent.

Les formes végétatives, schizontes et corps en rosace, ne se développent pas et succombent rapidement. Mais les gamètes mâles (*microgamétocytes*) et femelles (*macrogamètes*) poursuivent leur évolution dans le corps de l'insecte.

Du noyau des microgamétocytes s'échappent des flagelles ou *microgamètes*, filaments très ténus (*corps flagellés*), qui gagnent la périphérie de l'élément et, doués d'une mobilité extrême, se détachent du parasite qui leur a donné naissance pour s'échapper dans le plasma sanguin et se diriger vers un macrogamète.

Le microgamète s'approche du macrogamète (élément femelle), qui pousse à sa rencontre une élevure, sorte de pseudopode. Ce

Fig. 330. — Enkystement de l'Hématozoaire dans la paroi gastrique du moustique (Ross).

Fig. 331. — Zygote mûr avec ses corps falciformes ou sporozoïtes (Grassi).

pseudopode happe le microgamète, qui pénètre dans l'intérieur du macrogamète et le féconde (fig. 340).

Ce macrogamète, une fois fécondé, change de forme et prend, environ douze heures après, une forme allongée, vermiculaire, poussant une sorte de bourgeon à l'une de ses extrémités. C'est l'*ookinète*, véritable œuf mobile. Doué de mouvements, il s'insinue entre les cellules épithéliales de la muqueuse gastrique du

moustique, puis se transforme en un kyste pigmenté (*zygote*), qui atteint, quarante-huit heures après l'infection de l'hôte nouveau, les dimensions d'un globule rouge ; il siège dans la musculeuse ; son volume augmente à tel point que le troisième jour il est six fois plus gros ; il fait alors hernie dans la cavité du corps du moustique (fig. 330), et son protoplasma se divise en kystes filles ou sporoblastes (Schaudinn et Lühe), qui se divisent en *corps falciformes* ou *sporozoïtes* (fig. 331). Quand il est arrivé à maturité, la paroi du zygote se rompt (fig. 332) ; les sporozoïtes devenus libres envahissent la cavité générale de l'insecte, et de là, grâce aux mouvements dont ils sont animés, se rendent dans les glandes salivaires (fig. 333), où ils se groupent les uns à côté des autres, formant comme une palissade.

Si le moutisque porteur de sporozoïtes dans les glandes salivaires pique un sujet sain, il les inocule ; ces nouveaux éléments pénètrent

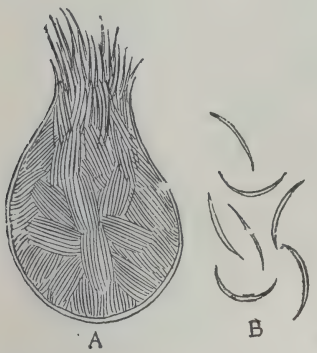


Fig. 332. — A, zygote ouvert. — B, sporozoïtes libres (Grassi).

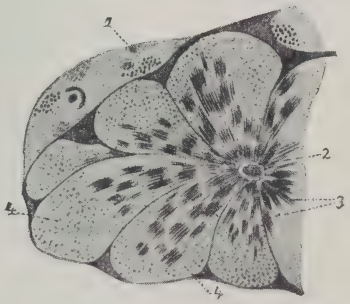
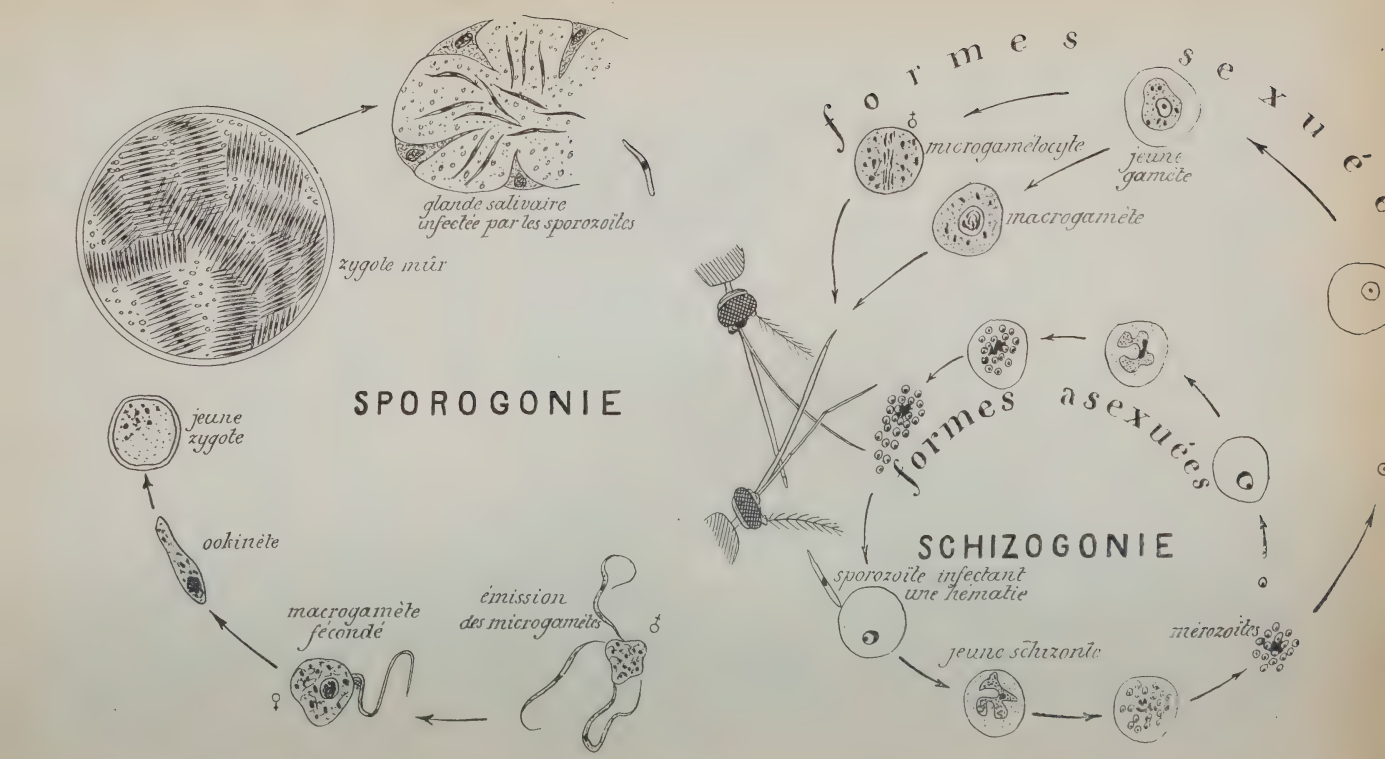


Fig. 333. — Sporozoïtes (3) dans une coupe de glande salivaire de moustique infecté (Grassi).

dans l'intérieur des hématies, les parasitent et se comportent comme un mérozoïte qui va parcourir les divers stades (corps amiboïde, corps en rosace) de la reproduction asexuée ou schizogonie (fig. 334).

Sans vouloir préjuger actuellement de l'unité ou de la pluralité des Hématozoaires du paludisme, il est indiscutable qu'il en existe trois types morphologiques, correspondant aux trois types cliniques principaux des fièvres palustres.

Néanmoins, ces trois types parasitaires sont reliés par un ensemble de caractères qui leur sont communs, et qu'il a lieu de décrire tout d'abord.



Chez le **Moustique**, *hôte définitif.*

*Chez l'*Homme, *hôte intermédiaire.*

Fig. 334. — Evolution de l'hématozoaire du paludisme (d'après Ed. et Et. Sergent).

CARACTÈRES COMMUNS AUX TROIS TYPES MORPHOLOGIQUES D'HÉMATOZOAIRES.

Structure générale. — *Schizonte.* — Les schizontes sont constitués par trois parties essentielles auxquelles il y a lieu d'ajouter certaines altérations globulaires, qui sont liées à leur présence et à leur siège endo-globulaire.

Cytoplasma. — Partie fondamentale du schizonte, le cytoplasma a une structure finement granuleuse, aréolaire; il contient des vacuoles de dimensions variables et irrégulièrement disséminées, puis des granulations, de teinte habituellement noirâtre, dont

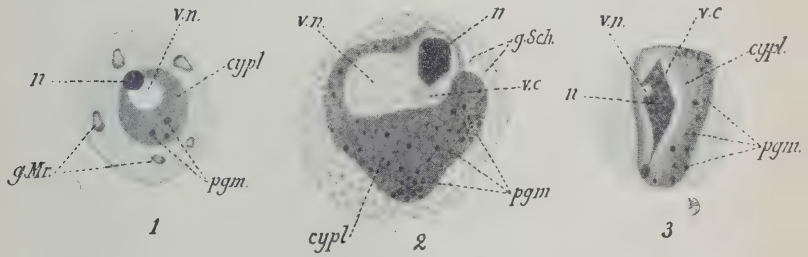


Fig. 335. — Caractères communs aux trois types morphologiques d'hématozoaires du paludisme ; *1*, type *præcox*; *2*, type *tertianum*; *3*, type *quartanum*. (A. Billet.)

cypl, cytoplasma; *pgm.*, pigment malarique; *n.*, noyau; *vc*, vésicule nucléaire; *vn*, vésicule nutritive; *g.Mr.*, taches de Maurer; *g.Sch.*, granulations de Schüffner.

l'ensemble constitue ce qu'on nomme le « *pigment mélanique* ». Pour certains, il provient de l'hémoglobine incorporée par le parasite ; pour d'autres (Brown), il serait constitué par de l'hématine, et serait dû à l'action d'une enzyme protéolytique du parasite sur l'hémoglobine des hématies.

Ce cytoplasma est doué de mouvements amiboïdes plus ou moins marqués, et s'accroît progressivement aux dépens de l'hématie parasitée.

Noyau. — Le noyau est un *caryosome*, le plus souvent excentrique et de forme arrondie ; parfois il est ovalaire ou linéaire. Il est constitué par de la chromatine homogène, ou granuleuse, ou filamenteuse.

Le caryosome peut s'étirer en un filament terminé à chaque extrémité par une masse arrondie, formée de grains chromatiques qui se séparent l'un de l'autre pour constituer dès lors deux noyaux de dimensions très inégales (fig. 338).

Le noyau enfin s'entoure d'une zone claire, désignée sous le nom de *vésicule nucléaire* (*vc*).

Vésicule nutritive. — Constituée par une vacuole incolore, transparente, plus ou moins arrondie, sans granulations, elle s'accroît au fur et à mesure du développement du parasite. Elle disparaît au moment de la schizogonie proprement dite; elle semble indiquer l'arrêt de l'accroissement et par conséquent la maturité du schizonte.

Altérations globulaires. — Les hématies parasitées par les schizontes présentent des altérations particulières, variant suivant le type morphologique de l'Hématozoaire. Outre les modifications de forme et de volume, qui se traduisent par la déformation (accentuation ou effacement) des contours, l'hypertrophie ou l'atrophie globulaire, on observe la production de granulations qui se montrent à la surface, sous l'aspect de taches, de mouchetures, (grains de Maurer), ou à l'intérieur même, sous forme de granulations dites de Schüffner (fig. 335). Ces granulations spéciales qui seront décrites lors de l'étude de divers types d'hématozoaires peuvent aider la différenciation de ces derniers.

Gamètes. — La structure des gamètes est sensiblement la même que celle des schizontes, sauf cette particularité constituée par la disparition de la vésicule nutritive, qui permet dès lors la différenciation d'avec les schizontes.

Ookinète. — L'ookinète est le produit de la fécondation du macrogamète par un microgamète. Il présente une forme allongée provenant de la production d'un bourgeon poussé par le macrogamète fécondé; alors que le macrogamète était immobile, l'ookinète est mobile; à l'état frais, on le voit se recourber et s'étirer, et c'est grâce à ces mouvements qu'il progresse; le pigment est en déplacement constant.

Sur les préparations colorées, le cytoplasma est parsemé de grains de pigment qui finissent par se réunir en un amas; au début, deux noyaux, mâle et femelle, sont perceptibles; en réalité le noyau femelle paraît couvert comme d'une calotte par la chromatine de l'organe mâle; ces éléments nucléaires se confondent petit à petit (fig. 336).

Zygote. — Le zygote, qui dérive directement de l'ookinète, est un corps arrondi, atteignant tout d'abord les dimensions d'une hématie: 6 à 7 μ de diamètre; il présente un aspect hyalin, et contient des grains de pigment, qui sont dispersés et doués de mouvements parfois très vifs.

Quelques jours après (cinq jours après la succion), son diamètre

atteint 16 à 18 μ ; le cytoplasma est divisé en plusieurs masses constituées par un noyau entouré d'une couche de protoplasma (sporoblastes). Puis chaque sporoblaste se divise (par division amitosique du noyau) et se transforme en sporozoïtes ; à cette époque

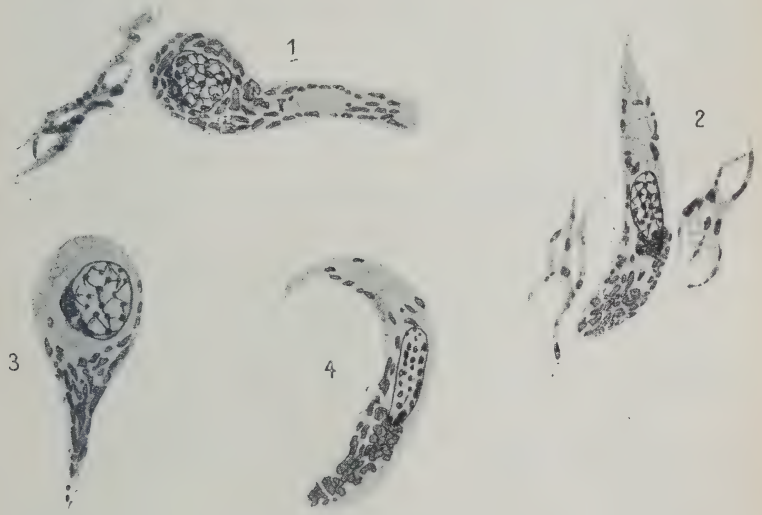


Fig. 336. — Ookinète (d'après Schaudinn).

1, l'ookinète se forme et va se séparer des microgamètes qui sont arrivés trop tard pour féconder le macrogamète et qui sont en voie de dégénérescence ; 2, ookinète complètement développé ; 3, ookinète en mouvement, laissant échapper quelques grains de pigment avec sa sécrétion muqueuse. Dans ces trois ookinètes, on distingue les deux caryosomes mâle et femelle (synkarions), ce qui ne se produit plus en 4. (Grall et Marchoux).

(six à sept jours après la succion), le diamètre du zygote atteint 36 à 40 μ ; l'élément prend alors un aspect strié, résultant de la formation des sporozoïtes qui se disposent en rayons sur chaque sporoblaste. A l'intérieur on perçoit parfois des corps noirs simulant des racines noueuses, que R. Ross a nommés *black spores*, représentant sans doute des formes de dégénérescence.

Au huitième jour, le zygote, arrivé à maturité, se rompt et met en liberté les sporozoïtes.

Sporozoïtes. — Les sporozoïtes se présentent sous l'aspect de corps filiformes recourbés, longs en moyenne de 14 μ, larges de 1 à 2 μ, mobiles (flexion, incurvation, contraction annulaire) ; une extrémité est plus pointue que l'autre ; ils sont munis en leur centre

d'un caryosome assez dense et volumineux ; le reste est constitué par du cytoplasma qui se colore fortement aux extrémités.

Coloration. — On peut employer de multiples procédés de coloration qui se ramènent aux suivants :

1° Des colorations simples qui permettent de se rendre rapidement compte de la présence de l'Hématozoaire, mais ne peuvent préciser certains détails. Dans ce groupe rentrent les méthodes à la thionine phéniquée et au bleu boraté.

2° Des colorations composées, qui seules peuvent mettre en évidence des finesses de structure en effectuant une différenciation nette entre le cytoplasma et la chromatine. Elles se résument dans la méthode de Romanowski qui a été le point de départ d'une série nouvelle de procédés qui en dérivent directement et en sont des perfectionnements.

Thionine phéniquée (Marchoux). — Colorer pendant quelques secondes, laver, sécher.

Les noyaux des leucocytes sont bleus, les Hématozoaires de couleur pourpre; les hématies sont colorées en vert.

Procédé au bleu boraté (Malachowsky). — Colorer avec une solution composée de :

Bleu de méthylène.....	3	grammes.
Borax.....	5	—
Eau distillée.....	100	—

Laisser en contact quelques secondes, la coloration étant presque instantanée. Laver, sécher.

Les Hématozoaires sont colorés en bleu foncé, de même les noyaux des leucocytes. Les hématies sont teintées en vert pâle.

Procédé de Romanowski. — Mélanger les deux solutions suivantes :

Solution aqueuse saturée de bleu.....	2	parties.
Solution aqueuse d'éosine à 1 p. 100.....	5	—

Agiter, se garder de filtrer le précipité qui se forme.

Ne pas verser le colorant sur la lame, sans quoi le précipité masquerait les détails ; mais verser le contenu dans une boîte de Petri, par exemple, et placer la lame, la face à colorer en bas. On utilise avantageusement, dans ce but, la boîte de Laveran. Laisser séjourner dans un bain pendant deux heures. Laver à l'eau, à l'alcool, sécher.

Les hématies sont colorées en rose, les noyaux des leucocytes en violet, les Hématozoaires en bleu (protoplasma et nucléole).

Procédé de Laveran. — Préparer, au moment du bain, le mélange suivant :

Solution d'éosine à 1 p. 100.....	4 cent. cubes.
Bleu Borrel.....	1 cent. cube.
Eau distillée.....	10 cent. cubes.

Colorer pendant dix à quinze minutes (même précaution que pour le procédé de Romanowski : face en dessous). Laver à grande eau.

Faire agir, pour la différenciation, une solution de tanin à 5 p. 100 pendant cinq minutes environ. Laver de nouveau, sécher.

Les hématies sont colorées en rose, les noyaux leucocytaires en violet. Le protoplasma des parasites est bleu, la nucléole est rouge violacé.

Procédé de Giemsa. — Le procédé de Giemsa a pour but d'éviter l'emploi de deux liquides colorants ; on utilise un mélange de bleu et d'éosine.

Ce mélange se compose de bleu-azur II de Grübler et d'éosine, dissous dans la glycérine et l'alcool méthylique :

Solution d'éosine à 1 p. 1 000.....	2 cent. cubes.
Solution de bleu-azur II à 1 p. 1 000....	1 cent. cube.
Eau distillée.....	8 cent. cubes.

Cette solution se trouve toute préparée dans le commerce.

Colorer pendant quinze minutes dans un bain obtenu par le mélange de dix gouttes de cette solution à 10 centimètres cubes d'eau distillée. Laver. Différencier par le tanin à 5 p. 100. Laver. Sécher.

Procédé de Leishman. — Le colorant de Leihsman s'obtient en dissolvant dans 10 centimètres cubes d'alcool méthylique des pastilles de tanin avec la poudre d'un mélange desséché, composé à parties égales de bleu de méthylène additionné de 0,5 p. 100 de carbonate de soude et d'éosine à 1 p. 1 000.

On verse sur la préparation III à IV gouttes de la solution obtenue ; laisser en contact pendant trente secondes, puis ajouter VI à VIII gouttes d'eau; laisser ce mélange en contact avec la préparation pendant cinq à dix minutes. Laver. Sécher.

La coloration est moins intense avec ce procédé qu'avec les précédents, mais elle a l'avantage d'éviter les dépôts de précipité.

Procédé de Marino. — Le bleu de Marino est versé sur la lame comme précédemment, mais, au lieu de l'étendre d'eau, on l'additionne d'éosine à 1 p. 1 000. La coloration est faible.

Procédé de Hollande. — Hollande utilise un *éosinate de bleu de*

méthylène transformé par la soude caustique. On le trouve dans le commerce sous l'aspect d'une poudre que l'on dissout à 1 p. 1 000 dans l'alcool méthylique absolu. On laisse en contact vingt-quatre heures.

Sans fixation préalable :

Verser sur l'étalement de sang non fixé douze à quinze gouttes de cette solution alcoolique ; laisser en contact pendant trois minutes qui permettent à la fixation de s'effectuer.

Recouvrir la lame d'un couvercle de boîte de Petri pour éviter l'évaporation de l'alcool ; ajouter une même quantité d'eau distillée, tiède de préférence ; nouveau contact de trois minutes.

Verser le colorant et faire agir la solution de bleu de Hollande pendant trente minutes.

Laver, sécher au papier buvard.

Ou bien, *après fixation* par l'alcool-éther durant dix minutes :

Verser sur la lame quinze à vingt gouttes d'une solution alcoolique dans 10 centimètres cubes d'eau distillée effectuée au moment de l'usage.

Laisser agir pendant vingt à trente minutes (sous couvercle de boîte de Petri).

Laver à l'eau distillée, sécher comme précédemment.

Procédé de Goubault. — Emploi de l'éosinate de bleu de méthylène transformé par le borate de soude et le bleu de méthylène pur ; ce colorant a reçu de l'auteur le nom de *pancolore.*

Colorer *sans fixation préalable* à l'aide de douze à quinze gouttes de colorant ; laisser agir pendant cinq minutes ; ajouter douze à quinze gouttes d'eau distillée à 37°. Faire agir pendant vingt-cinq minutes. Laver et sécher.

Ce procédé donne de bonnes colorations.

Procédé de Tribondeau. — Ce colorant est du biéosinate (éosinate simple de bleu de méthylène et éosinate de bleu Borrel en solution dans l'alcool éthylique absolu additionné de 10 p. 100 de glycérine).

Pas de fixation préalable.

Verser sur le frottis environ douze gouttes de ce colorant qu'on trouve tout préparé dans le commerce. Laisser agir trois minutes sous le couvercle d'une boîte de Petri. Ajouter douze gouttes d'eau distillée et mélanger avec le colorant. Laisser en contact huit à douze minutes. Laver, sécher.

Procédé au panchrome Laveran. — Solution alcoolique d'éosinate de bleu Borrel à l'oxyde d'argent (Legroux), qui s'emploie *sans fixation préalable,* comme précédemment.

Etendre sur le frottis le panchrome pur ; couvrir la lame; laisser agir pendant trois minutes (fixation); renverser la lame, face à colorer en dessous, dans une boîte de Laveran ou de Petri contenant la quantité d'eau distillée correspondant à la quantité de panchrome. Agiter pour mélanger.

Laisser en contact pendant quinze à trente minutes suivant les éléments à colorer.

Laver, sécher au papier buvard.

Tous les procédés de coloration composée sont donc à base de bleu et d'éosine, chacune de ces substances ayant une affinité tinctoriale différente :

Le cytoplasma se colore en bleu plus ou moins vif, selon qu'il s'agit de schizontes ou de gamètes ; le noyau, qui retient électivement l'éosine, se teinte en rouge vif ; la vésicule nucléaire en rose pâle ; la vésicule nutritive reste incolore.

CARACTÈRES SPÉCIAUX A CHACUN DES TROIS TYPES MORPHOLOGIQUES.

Plasmodium vivax.

(Synonymes : *Plasmodium malariæ*, var.. *tertiania*, Celli et San Felice 1891 ; *Hæmamœba malariæ*, var. *magna*, Laveran 1900).

C'est le type morphologique qui correspond à la *tierce bénigne* ; son cycle évolutif a une durée de quarante-huit heures, comprise entre le moment où le mérozoïte pénètre dans l'hématie et devient ainsi schizonte, et celui où des mérozoïtes nouveaux sont mis en liberté à la suite de la division totale du schizonte.

Schizonte. — Le mérozoïte qui va parasiter le globule rouge s'applique contre ce dernier avec une extrémité effilée qui lui permet de pénétrer à son intérieur (fig. 337, 1).

Une fois devenu endoglobulaire (fig. 337, 2), le schizonte mesure 2 à 3 μ, il est annulaire, mais ovalaire ; le cytoplasma très nettement visible, teinté en bleu et contenant déjà du pigment malarique, est disposé en arc ; le noyau, punctiforme, est coloré en rouge vif et situé au côté opposé du cytoplasma ; il se divise parfois en deux noyaux, de volume inégal.

Un globule rouge peut être parasité par deux ou trois schizontes. Après ce premier stade qui dure douze heures environ, des transformations apparaissent, portant sur le parasite et sur l'hématie qui le contient.

Le schizonte prend alors un *aspect vermiculaire* : le cytoplasma s'allonge (fig. 337, 4) ; il est animé en même temps qu'on observe de mouvements amiboïdes très actifs : le parasite émet en effet en tout sens des pseudopodes qui font constamment varier la ligne de son contour ; son aspect rappelle à ce moment, d'après A. Billet, celui d'une hémogrégarine, d'où le nom de *stade hémogrégariniforme* qu'il a donné à cette phase de son évolution.

Son développement se poursuivant, le parasite, gêné, s'incurve (fig. 337, 5) puis se replie, si bien que ses deux extrémités se rapprochent l'une de l'autre (fig. 337, 6). Parallèlement, le noyau, la vésicule nutritive et la vésicule nucléaire augmentent de volume. A cette époque, le schizonte semble présenter une forme arrondie ; son pigment devient de plus en plus abondant et se groupe par petits amas épars ; le parasite a atteint, vers la trentième heure, les dimensions de 8 μ à 8μ,5.

L'hématie parasitée subit en même temps des modifications importantes :

Le globule rouge s'hypertrophie, son accroissement se trouvant en rapport direct avec celui du schizonte ; il peut atteindre jusqu'à 12 μ. Il se déforme à la suite de la production d'encoches périphériques ; il se décolore sous l'influence de l'absorption de l'hémoglobine par le parasite ; enfin il contient des granulations arrondies, d'abord fines, à peine perceptibles, puis de plus en plus apparentes et abondantes au point de masquer en partie le schizonte. On ne peut les déceler qu'après coloration ; elles prennent une teinte rouge violacé foncé. Ce sont les *granulations de Schüffner* ; différentes des granulations de Maurer (Voy. type *præcox*), elles sont caractéristiques et spéciales aux globules rouges parasités par l'Hématozoaire de la tierce bénigne.

Vers la trente-sixième heure on assiste alors au *processus schizogonique proprement dit* :

Le schizonte s'immobilise et s'arrondit ; la vésicule nutritive disparaît, d'où rétraction du schizonte ; le noyau devient énorme et prend un aspect étoilé (fig. 337, 7). Il se divise en deux, puis quatre, puis huit, puis seize noyaux ; les grains de pigment s'amassent au centre du cytoplasma pour y constituer en définitive une masse granuleuse compacte ; le contour du parasite se festonne tandis que les noyaux vont se ranger vers la périphérie et se disposent généralement en deux zones concentriques ; on assiste ensuite insensiblement à la segmentation du schizonte, chaque segment se trouvant constitué par une petite masse protoplasmique qui s'est condensée autour d'un caryosome, et représentant un mérozoïte. Le schizonte

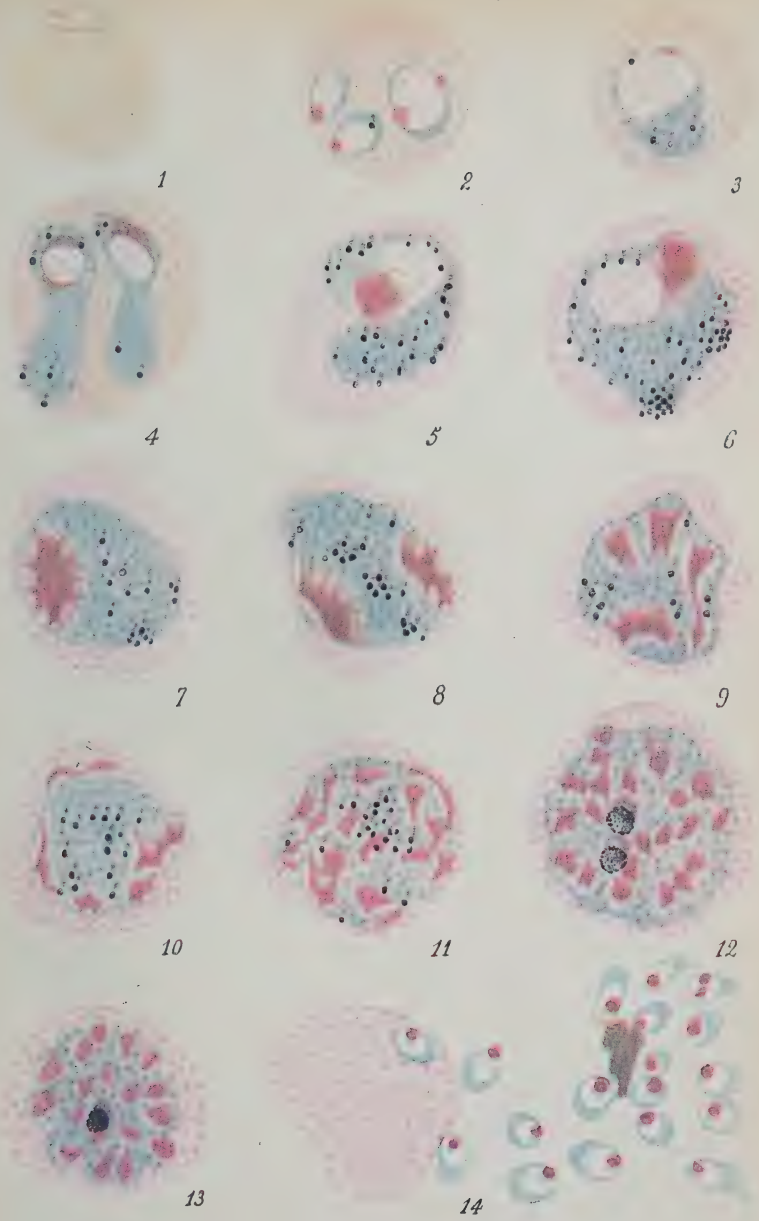


Fig. 337. — Hématozoaires du paludisme. — *Type tertianum* (*Schizogonie*).

1, globule normal avec un mérozoïte sur le point d'y pénétrer ; 2, 3, stade annulaire jeune ; 4, 5, stade hémogrégariniforme ; 6, schizonte adulte ; 7 à 13, schizogonie proprement dite ; 12, deux schizontes en segmentation avancée dans un même globule ; 14, mise en liberté des mérozoïtes.

ainsi divisé prend un aspect qui rappelle celui d'une *rosace* (fig. 337, 13) d'où le nom de *corps en rosace* qui lui a été donné par Laveran.

Enfin le globule rouge éclate, les segments se dissocient et les mérozoïtes mis en liberté sont emportés dans la circulation sanguine où ils vont parasiter de nouvelles hématies, et le cycle précédent se renouvelle.

Gamètes. — *Évolution endoglobulaire.* — La morphologie des gamètes diffère sensiblement de celle des schizontes : réactions colorantes un peu différentes, disparition de la vésicule nutritive, leur forme est arrondie dès le début, les granulations pigmentaires prennent un aspect spécial.

Macrogamètes. — Le cytoplasma des macrogamètes (éléments femelles) est plus foncé que celui du schizonte; le noyau (rouge vif) tend à devenir central : il est entouré complètement par la vésicule nucléaire (rose) dont il occupe le centre ; quelques grains de pigment ; nombreuses granulations de Schüffner dans l'hématie (fig. 338, 1, 2, 3).

Quand l'élément est adulte, il est très volumineux (10 μ) ; le cytoplasma, toujours bleu foncé, contient alors des granulations pigmentaires, non pas en amas comme le schizonte adulte, mais prenant un aspect bacilliforme ; le noyau est volumineux, aréolé et étoilé ; la vésicule nucléaire est très volumineuse ; enfin le globule rouge n'est plus qu'une mince bande périphérique, très riche en granulations de Schüffner.

Microgamétocytes. — Le cytoplasma n'est plus bleu ; il est gris perle, finement aréolaire ; le pigment est sous forme d'amas épais ; la vésicule nucléaire est ovalaire, le noyau très irrégulier.

A l'état adulte, même aspect général du cytoplasma, avec gros amas pigmentaires et distincts ; vésicule nucléaire énorme occupant le parasite d'un pôle à l'autre ; noyau allongé à chromatine filamenteuse, émettant les prolongements destinés à devenir des microgamètes. Hématie toujours hypertrophiée et riche en granulations de Schüffner (fig. 338, 4, 5, 6).

Le cycle endoglobulaire dure quarante-huit heures, comme celui des schizontes.

Évolution exogène. — Le cycle exogène qui aboutit à la sporulation se passe dans le corps du moustique. Il comprend les phases décrites plus haut.

Pour les observer dans le sang humain, recueillir 5 à 10 centimètres cubes de sang renfermant un grand nombre de gamètes ; agiter vivement pour ralentir la coagulation ; porter à l'étuve à 37° dans une chambre humide. Examiner après vingt à vingt-cinq minutes.

L'observation est plus facile en examinant en goutte pendante le sang de l'estomac d'un Anophèle vingt à trente minutes après la piqûre.

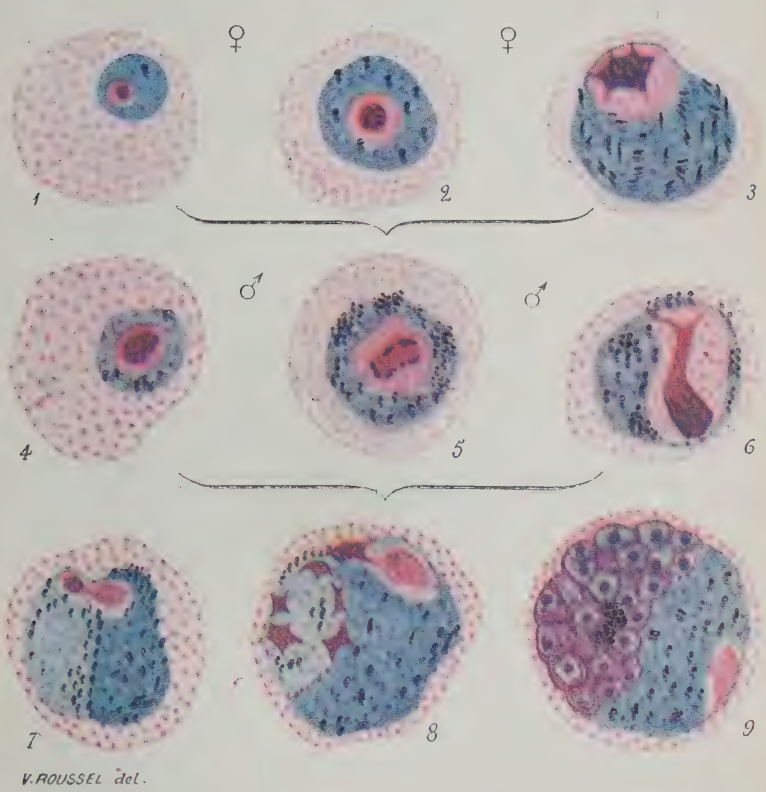


Fig. 338. — Hématozoaires du paludisme. — *Type tertianum.* — *Développement des gamètes* (A. Billet).

1, 2, 3, développement du macrogamète ; 4, 5, 6, développement du microgamétocyte ; 7, 8, 9, parthénogénèse du macrogamète.

1° Le microgamétocyte, dont la chromatine s'est divisée, se contracte. Le pigment s'amasse au centre, la vésicule nucléaire disparaît ; les caryosomes gagnent la surface, où se forment de petites élevures, puis un ou plusieurs filaments hyalins sont projetés en dehors, à la manière des doigts de gant (fig. 339), qui s'allongent

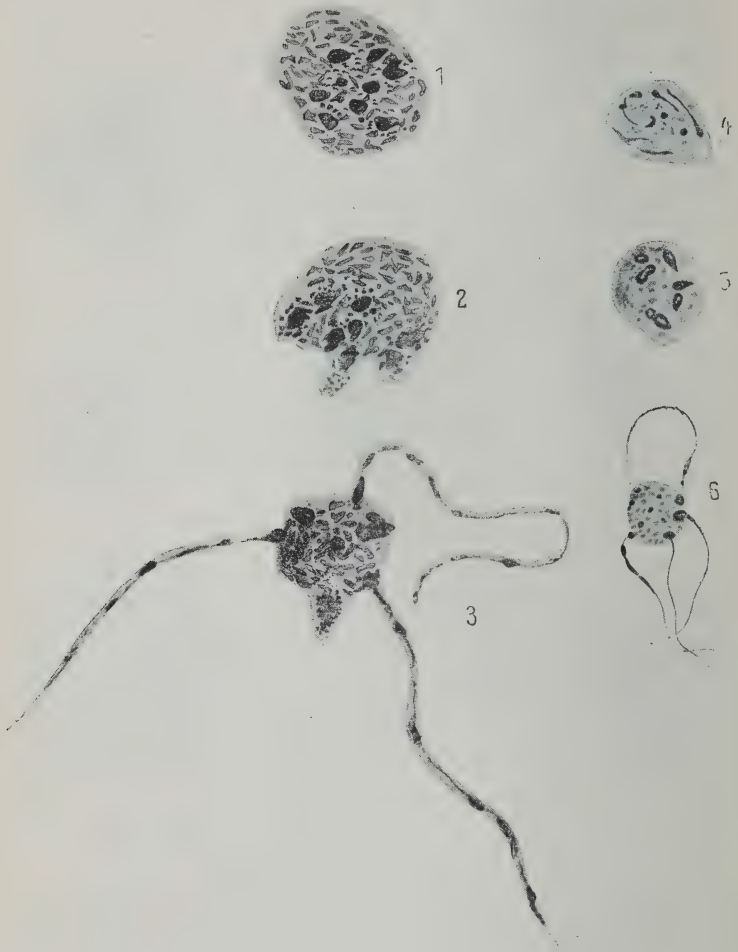


Fig. 339. — Formation de microgamètes (d'après Schaudinn) (1-3) Bastianelli et Bignami (4-6).

1, division nucléaire en 8 karyosomes ; 2, les karyosomes se portent à la périphérie, s'entourent de protoplasma et font hernie ; 3, expulsion des microgamètes ; 4, 5, tierce maligne, le croissant est devenu sphérique ; le noyau est divisé ; 6, formation de microgamètes.

pour former des flagelles très longs, fouettant de tous côtés. Ils finissent par se détacher, et constituent dès lors les *microgamètes* (fig. 339,3) qui doués de mouvements très actifs, s'échappent ensuite dans le plasma sanguin en déplaçant les hématies voisines. En réalité, ce sont les caryosomes qui, rejetés à la périphérie, s'entourent de protoplasma et se transforment en microgamètes. Au niveau de ceux-ci, la chromatine se montre sous l'aspect de granulations rangées en chapelet, et donnant naissance à de petits renflements siègeant à leurs extrémités ou le long de leur trajet.

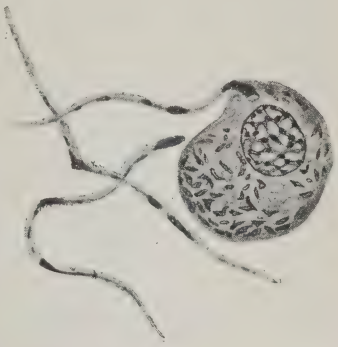


Fig. 340. — Fécondation d'un macrogamète (d'après Schaudinn).

2° Ces microgamètes se dirigent vers les macrogamètes. Parmi ceux qui entourent l'un de ces derniers, un microgamète est « happé » par l'élément femelle (fig. 340) qui forme au point de contact une petite hernie protoplasmique ; il s'immobilise et la hernie s'efface, le pigment s'agite vivement ; ces phénomènes aboutissent à la formation de l'ookinète.

Parthénogénèse. — Schaudinn a pu suivre les différentes phases de cet autre mode de reproduction :

Le noyau et le cytoplasma du macrogamète se divisent, chaque partie prenant une coloration différente et se comportant, au point de vue de la pigmentation et de la division du noyau, l'une comme un schizonte, l'autre comme un macrogamète. La première est le siège de la segmentation connue en mérozoïtes ; la seconde reste avec les caractères du macrogamète (fig. 338, 7, 8, 9).

Plasmodium malariæ.

(Synonymes : *Pl. malariæ*, var. *quartana*, Celli et San Felice 1891, *Hæm. malariæ*, var. *quartana*, Laveran 1901).

Cette variété d'Hématozoaire correspond à la fièvre quarte. Son cycle évolutif a une durée de soixante-douze heures.

Schizonte. — Quand il vient de parasiter le globule rouge, le schizonte présente une forme nettement arrondie ; le cytoplasma

représente un anneau assez épais avec quelques grains pigmentaires : le noyau est excentrique ; la vacuole nutritive est déjà bien formée (fig. 341, 1).

Tel est l'aspect pendant l'accès fébrile ; pendant l'apyrexie, le développement s'effectue lentement : le schizonte s'allonge et s'effile, mais il persiste une partie ronde qui s'applique contre la périphérie de l'hématie ; cette portion renflée contient la vésicule nutritive et le noyau, souvent divisé en deux. L'aspect général de l'élément est celui d'une *raquette* (fig. 341, 2).

Puis l'allongement se poursuit, et le parasite prend la forme d'un *vermicule* très mince (fig. 341, 3), s'étendant d'un bout à l'autre du diamètre de l'hématie. Le noyau s'allonge également, ainsi que la vésicule nutritive, suivant l'axe du parasite.

Ce dernier prend ensuite un aspect *piriforme* (fig. 341, 4) ; il présente alors des mouvements amiboïdes, mais infiniment moins marqués que dans le type *vivax*, et sans émission de pseudopodes. En même temps, les grains de pigment, plus abondants, se portent de préférence vers la partie effilée.

Durant la deuxième journée d'apyrexie, le développement s'accuse : l'extrémité effilée atteint l'autre pôle du globule et s'arrondit, alors que la partie renflée s'accroît latéralement ; le schizonte se montre alors sous la forme d'une *bandelette* (fig. 341, 7), le noyau s'accroît lui aussi et s'allonge dans le sens de l'axe de cette dernière, en se disposant sur l'un de ses côtés ; une de ses extrémités s'effile, terminée par un caryosome secondaire ; le pigment se dispose sur la partie latérale opposée.

L'hématie parasitée, contrairement à ce qu'on observe avec *Pl. vivax*, ne semble présenter aucune modification ; pas de teinte spéciale, pas de granulation, pas d'hypertrophie ; en s'accroissant, le parasite va donc être obligé de se replier (fig. 341, 8) ; il présentera, dès lors, ici encore, un aspect hémogrégariniforme plus net même que dans le type précédent ; la vésicule nutritive disparaît.

A la fin du deuxième jour d'apyrexie, la division commence ; entre la soixantième et la soixante-douzième heure, les figures de *rosace* sont nettes, avec amas compact de pigment au centre et séparation individuelle de chaque mérozoïte. On compte seulement sept, huit ou neuf mérozoïtes ; les rosaces sont moins volumineuses que celles de la tierce (fig. 341, 14, 15, 16, 17).

Il est à noter d'une façon spéciale que dans la quarte, exceptionnelle déjà par elle-même, les parasites sont assez rares dans le sang circulant. A. Billet a fait remarquer qu'ils n'étaient perceptibles en nombre relativement grand que dans les doubles ou triples quartes.

Fig. 341. — Hématozoaires du paludisme. — *Type quartanum.* (A. Billet).

1, stade annulaire; 2, stade en raquette; 3, stade bacilliforme; 4, stade piriforme; 5, 6, 7, 8, stade hémogrégariniforme; 9, stade en bandelette (*Bandform*), schizonte adulte; 10 à 17, schizogonie proprement dite; 18, macrogamète; 19, microgamétocyte; 20, parthénogénèse d'un macrogamète.

Gamètes. — *Évolution endoglobulaire.* — La morphologie des gamètes de ce type est assez mal connue parce qu'ils sont rarement visibles dans le sang.

Macrogamètes. — Les macrogamètes ont des dimensions sensiblement égales à celles des hématies qu'ils envahissent complètement; ils sont repliés sur eux-mêmes, arrondis, sans vésicule nutritive; grains malariques très nombreux; noyaux arrondis occupant le centre.

Microgamétocytes. — Ils sont le plus souvent de forme ovalaire avec un noyau ovale, et grains de pigment moins abondants que chez les macrogamètes.

Évolution exogène. — On est encore plus mal renseigné sur l'évolution en dehors du sang humain. Quelques auteurs l'ont décrite, mais sans avoir observé toutes les phases de la fécondation. La sporulation semble cependant s'opérer comme chez *Pl. vivax*.

Parthénogénèse. — Les renseignements précis font également défaut sur ce mode de reproduction. A. Billet a décrit des formes qui peuvent s'y rapporter, mais sans pouvoir en donner d'interprétation nette.

Plasmodium præcox.

(Synonymes : *Hæm. malariæ*, var. *parva*, Laveran, 1900. *Pl. immaculatum*, Schaudinn 1902. *Pl. falciparum*, Blanchard 1905).

Ce type morphologique d'Hématozoaire correspond à la fièvre dite tropicale, ou estivo-automnale des auteurs italiens, ou fièvre tierce maligne. La durée de son cycle est de quarante-huit heures, comme dans la tierce bénigne.

Schizonte. — Quand le mérozoïte a pénétré dans la circulation, il met un certain temps à parasiter les globules rouges; aussi, doit-on distinguer deux phases dans son évolution : l'une *paraglobulaire* (fig. 342, 2 à 9), pendant laquelle il reste accolé à l'hématie (phase spéciale à *Pl. præcox*; elle est très réduite ou n'existe pas dans les types précédemment décrits ; l'autre *endoglobulaire*.

Dans la phase paraglobulaire, le schizonte est un élément arrondi de petite taille (1μ,5 à 2 μ de diamètre), plus petit par conséquent que les deux autres formes d'Hématozoaires, d'où le nom de variété *parva* qui lui a été donné par Laveran.

La forme générale est celle d'un *anneau* (fig. 342, 2) : le cytoplasma se montre en effet sous l'aspect d'une mince ligne bleutée qui entoure une vésicule nutritive très volumineuse, occupant à elle seule la presque totalité du schizonte; le noyau, rouge vif, est ponctu-

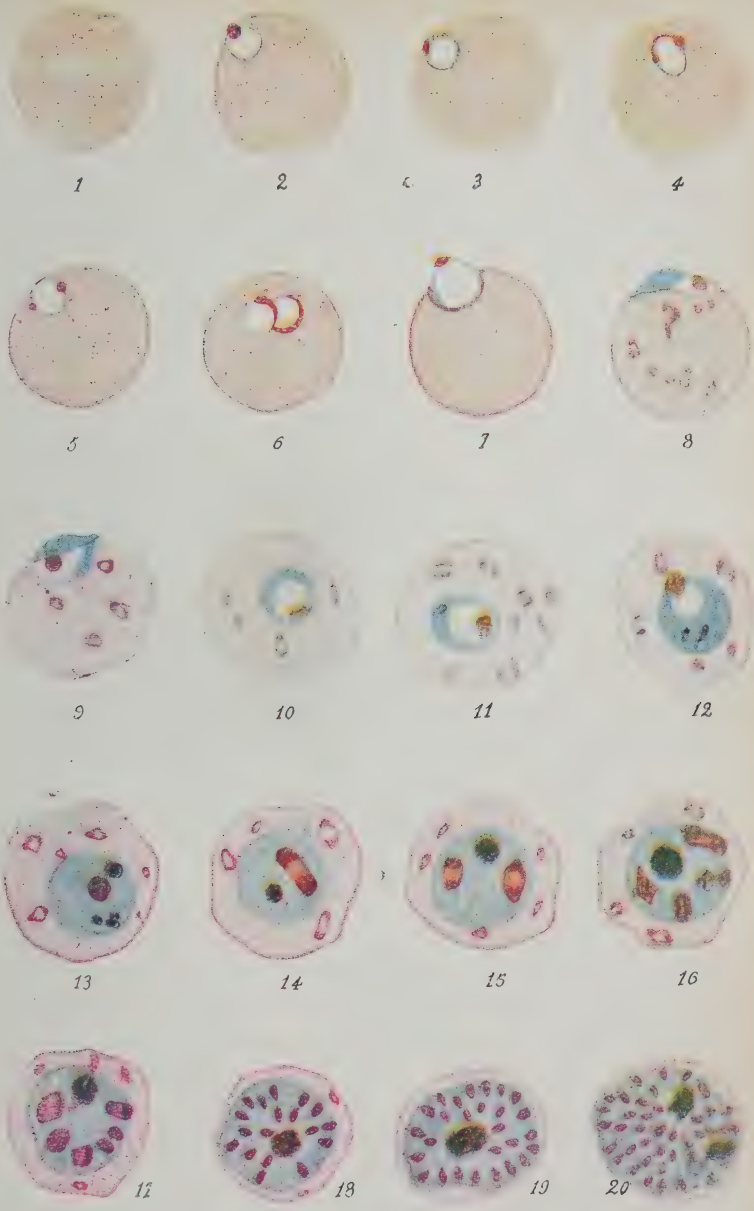


Fig. 342. — *Type præcox. Schizogonie* (A. Billet).

1, globule normal; 2 à 9, phase paraglobulaire; 10 à 20, phase endoglobulaire; 13, schizonte adulte; 14 à 20, schizogonie proprement dite.

forme, excentrique ; il fait saillie à la surface et ressemble d'assez près au chaton d'une bague.

Vers la douzième ou quinzième heure, le schizonte augmente légèrement de volume, le noyau s'étire en arc (fig. 342, 3) puis se divise en deux caryosomes éloignés l'un de l'autre (fig. 342, 4).

Ce n'est qu'entre la douzième et la vingt-quatrième heure que le parasite, augmentant nettement de volume, va pénétrer dans l'intérieur de l'hématie. Il commence par déprimer la surface de cette dernière (fig. 342, 7), s'aplatit (fig. 342, 8) et insinue progressivement son cytoplasma à l'intérieur du globule rouge.

Une fois *devenu intraglobulaire*, il s'accroît (fig. 342, 9 à 12) : 4 μ à la trentième heure, son cytoplasma s'épaissit et commence à présenter quelques rares grains pigmentaires très fins. (Dans cette forme, la pigmentation, même dans les stades ultimes, est extrêmement réduite).

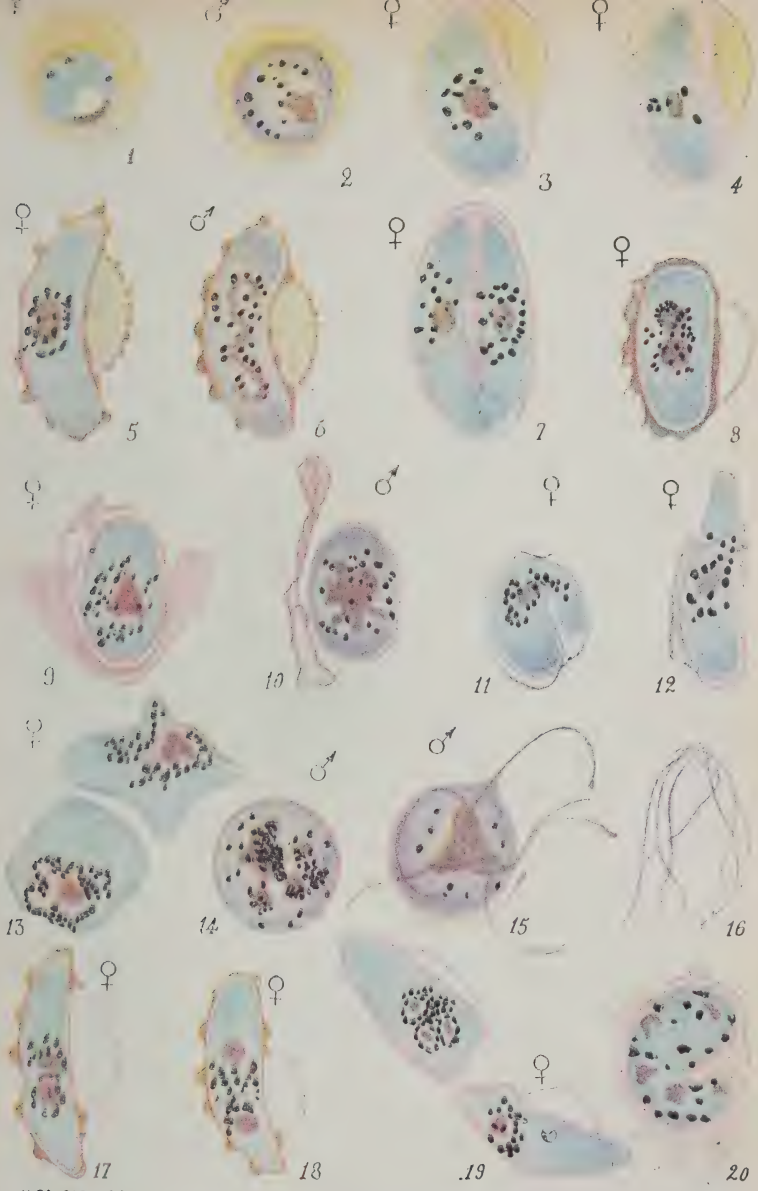
C'est vers la trente-sixième heure que le maximum de développement est atteint : le vésicule nutritive disparaît (fig. 342, 13), le pigment augmente légèrement pour constituer un amas compact qui gagne la partie centrale au fur et à mesure de la segmentation.

La schizogonie commence alors à se dessiner : le noyau s'étire (fig. 342, 14), puis se divise en deux, quatre, huit, seize et trente-deux noyaux secondaires, autour desquels le cytoplasme se condense, pour constituer autant de mérozoïtes. Finalement le parasite atteint ainsi 7 à 8 μ, remplissant la totalité de l'hématie (fig. 432, 15 à 20).

Le globule parasité subit pendant toute la durée de l'évolution précédente des modifications importantes :

Dès que le schizonte est devenu intraglobulaire, l'hématie se décolore, ses contours deviennent irréguliers, son volume s'accroît (8μ,5 à 9 μ). Enfin apparaissent à la surface des taches, véritables mouchetures, peu nombreuses (cinq à dix), soit punctiformes, soit circulaires, soit triangulaires, dont le contour est rouge foncé et le centre un peu plus clair. Ce sont les *taches de Maurer* ; elles sont spéciales à *Pl. præcox*; leur présence constitue un élément très important de diagnostic.

Il est à retenir d'une façon toute particulière que l'évolution schizogonique ci-dessus décrite se passe en grande partie *dans les organes internes* (rate, foie, cerveau, surtout moelle osseuse). Les figures qui la traduisent sont rares dans le sang circulant, et ce n'est guère qu'à l'autopsie de cas pernicieux qu'on peut les observer à loisir. Ce phénomène explique peut-être la virulence de cette forme, et ce fait, paradoxal en apparence, de l'absence ou de la



V. ROUSSEL del.

Fig. 343. — *Type præcox* (*Développement des gamètes*) ♀, gamètes femelles (*macrogamètes*), ♂, gamètes mâles (*microgamétocytes*). (A. Billet).

1 à 7, cycle intraglobulaire des gamètes; 1, 2, gamètes jeunes; 3, 4, gamètes plus avancés; 5, 6, gamètes adultes semi-lunaires (croissants); 7, deux macrogamètes dans un même globule; 8 à 16, cycle exogène des gamètes (première phase); 15, 16, exflagellation; 17 à 20, parthénogénèse des macrogamètes.

diminution du nombre des parasites au moment où l'état du malade est le plus grave.

Gamètes. — Les gamètes de *Pl. præcox* à l'état adulte sont faciles à reconnaître en raison de leur forme caractéristique : *forme en croissant* (Laveran).

Quand ils sont jeunes, ils ne semblent guère différer des schizontes. Cependant ils se présentent comme des corps arrondis, teintés en bleu s'il s'agit des femelles, en violet pâle s'il s'agit des mâles ; le pigment est, il est vrai, plus abondant et apparaît dès les premiers stades ; enfin il n'existe plus trace, au bout de peu de temps, de la vésicule nutritive. De plus, autour de chaque élément, se dessine un mince contour, teinté en rose vif, semblant représenter l'enveloppe qui entourera le parasite adulte (fig. 343, 1, 2).

Puis le gamète s'allonge et s'incurve sur une de ses faces, en même temps que l'hématie s'allonge, elle aussi, s'étire, se colore en rose foncé, tandis qu'une partie, prenant l'aspect d'une vésicule, reste intacte, et que le pigment tend à se grouper autour du noyau (fig. 343, 3 et 4).

Cette évolution ne se passe que dans les organes internes ; ils sont difficiles à voir dans le sang circulant.

Évolution endoglobulaire. — **Macrogamètes adultes.** — Parvenus à l'âge adulte, les macrogamètes ont une forme incurvée, un aspect réniforme ; une extrémité est effilée, l'autre est généralement arrondie ; ils ont 10 à 11 μ de long, sur 3 μ,5 à 4 μ de large, dépassant par conséquent en longueur les globules rouges. Très nettement visibles à l'état frais, il sont plus nets encore après coloration : le cytoplasma, bleu vif, finement aréolé, est pourvu en son centre d'un noyau ovalaire, teinté en rouge foncé et entouré d'une vésicule nucléaire. Le pigment se dispose en couronne autour du noyau (fig. 343, 5, 7).

Microgamétocytes adultes. — Même aspect général que les macrogamètes, mais ils sont plus trapus ; les extrémités sont obtuses. Le cytoplasma se teinte, non plus en bleu, mais en bleu violet pâle. Le noyau a un aspect spécial, différent de celui des éléments femelles : il s'étend sur presque toute la longueur du parasite, et est constitué par un filament chromatique plus ou moins pelotonné, qu'entoure une vésicule nucléaire teintée en rose pâle ; les grains de pigment sont isolés et disséminés dans le cytoplasma (fig. 343, 6, 8, 10).

Enfin ces gamètes, mâles et femelles, sont entourés d'une sorte de *capsule* qui s'épaissit de plus en plus avec l'époque de la maturité.

Cette capsule est hérissée de prolongements épineux teintés en rouge vif et figurant comme des crénelures, plus particulièrement perceptibles sur la face convexe; sur la face concave se trouve une formation hémisphérique qui semble n'être qu'un vestige d'hématie ayant résisté aux altérations créées par le parasite ; on peut admettre que la capsule ci-dessus représente l'enveloppe de l'hématie, épaissie et déformée, à l'intérieur de laquelle l'Hématozoaire s'est pour ainsi dire enkysté (A. Billet).

Cet enkystement expliquerait d'ailleurs assez bien la résistance classique de ces gamètes à l'a de la quinine contre laquelle ils seraient protégés.

Evolution exogène. — Dans le tube digestif de l'Anophèle, la sporulation s'effectue comme chez les Hématozoaires des types précédents : les gamètes, mâles et femelles, deviennent ovalaires, se libèrent peu à peu, par des mouvements ondulatoires, de leur capsule, et prennent l'aspect de petites amibes nues qui, à la faveur de pseudopodes, se meuvent dans le plasma.

Les microgamétocytes s'arrondissent et s'immobilisent. Alors s'opère l'expulsion des flagelles ou microgamètes ; puis la fécondation des macrogamètes par ces derniers, puis la transformation en ookinètes, sporoblastes, puis sporozoïtes, etc. (fig. 343, 13 à 18).

Parthénogénèse. — La parthénogcnèse de ce type *præcox*, étudiée surtout par Lewkowicz, Maurer, Pittaluga, etc., peut facilement s'observer dans le sang, surtout à la fin de la période d'invasion primaire du paludisme, chez les sujets qui ont présenté de nombreuses rechutes fébriles (A. Billet). On voit, après un début de bipartition de l'élément femelle, le croissant se diviser en deux parties séparées l'une de l'autre ; chacune d'elle possède une extrémité effilée et une autre rectiligne, correspondant au trait de bipartition. L une ne possède qu'un noyau et conserve ses caractères sexués ; l'autre possède trois masses chromatiques indiquant le début de la schizogonie. Puis l'élément, restant incurvé, augmente de volume en même temps que persistent les vestiges de capsule, et présente les caractéristiques de la division schizogonique (fig. 343, 19 et 20).

Rapports entre l'évolution du parasite et la courbe fébrile des paludéens.

La marche et les différentes phases cliniques des accès fébriles de la malaria sont en relation étroite avec le cycle évolutif du parasite qui leur a donné naissance, et sont même fonction de son évolution.

L'observation des faits, basée sur la clinique et sur les examens

microscopiques du sang au cours des phases successives de l'infection, montre que ce sont les schizontes et non les gamètes qui sont doués de propriétés fébrigènes. Autrement dit: *les accès fébriles sont l'expression symptomatique de l'évolution schizogonique de l'hématozoaire.* — En effet, pendant de longues périodes d'apyrexie, l'examen ne révèle que des gamètes, et ce n'est que le jour où les schizontes réapparaissent dans le sang que les accès fébriles se déclarent; en serrant le problème de plus près, on s'aperçoit d'autre part que l'ascension thermique (période de frisson) se produit au moment où la schizogonie va s'achever; le paroxysme de l'accès (stade de chaleur) apparaît quand les rosaces se dissocient pour mettre en liberté les mérozoïtes; le déclin de l'accès (stade de sueurs) se dessine quand ces derniers, ayant parasité des hématies, commencent à se développer. Et c'est pendant la période d'apyrexie que l'on observe les corps amiboïdes dont la croissance aboutit au corps en rosace, stade schizogonique proprement dit, qui amène à nouveau le retour de la fièvre et des frissons de l'accès suivant.

A. Billet a poursuivi même davantage ses investigations et a montré les corrélations existant entre les modifications des schizontes et les périodes horaires et cliniques des accès fébriles.

Tierce bénigne. — L'accès franc de la tierce bénigne se caractérise par son apparition matinale, une ascension thermique brusque et relativement courte (une à trois heures) ; la période de chaleur, plus longue, dure de cinq à six heures, enfin la défervescence (stade de sueurs), lente et progressive, peut ne prendre fin que la nuit suivante et même la matinée du deuxième jour.

Prenons l'exemple suivant, envisagé par A. Billet, pour étudier la succession horaire des phénomènes cliniques et parasitaires. Soit en effet le cas d'un accès tierce dont le paroxysme a lieu vers neuf heures du matin. Voici ce que l'on observe (fig. 344) :

1° Schizogonie complète et dissociation des mérozoïtes dès le début des frissons jusqu'à l'acmé de l'accès à 9 heures du matin : rosaces à 16-20 mérozoïtes.

2° Stade jeune, annulaire, intraglobulaire pendant le stade de chaleur et le stade de sueurs (de midi à neuf heures du soir).

3° Début du stade amiboïde pendant le reste du premier jour.

4° Stade hémogrégariniforme s'accentuant d'heure en heure pendant toute la matinée du deuxième jour. Le parasite émet des pseudopodes, reste mobile, se charge de grains de Schüffner jusqu'à la vingt-quatrième heure.

5° Les mouvements amiboïdes cessent progressivement; son accroissement se poursuit et se termine entre la vingt-quatrième et la trentième heure (de neuf heures du matin à trois heures du soir du deuxième jour).

6° A ce moment (trentième heure), début de la division schizogonique.

7° Premiers stades de la schizogonie proprement dite dans la soirée, vers la trente-sixième heure (de six heures du soir à minuit).

8° Continuation de la schizogonie dans la nuit du deuxième jour et la matinée du troisième (de minuit à six heures du matin).

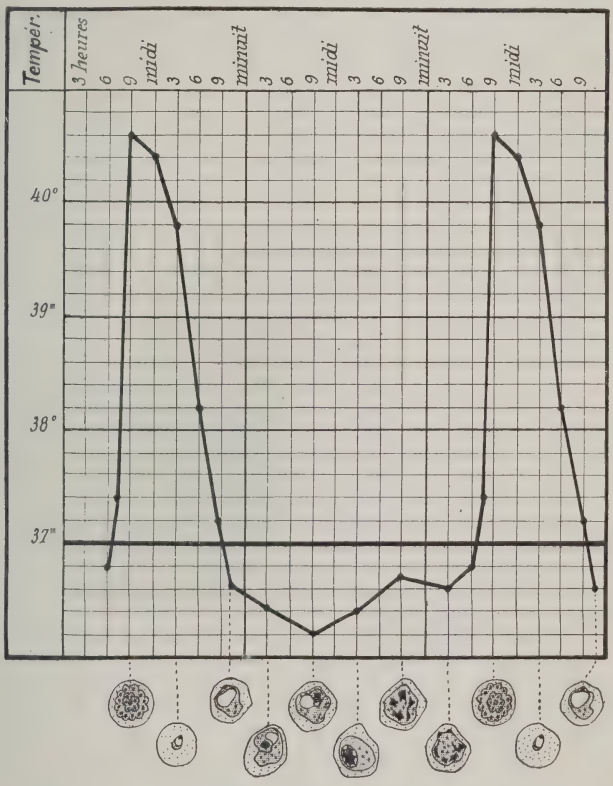


Fig. 344. — Courbe thermique d'un accès de tierce bénigne simple avec les formes correspondantes d'hématozoaires (d'après A. Billet).

9° Formation et dissociation des rosaces, mise en liberté de mérozoïtes, de la quarante-sixième à la quarante-huitième heure (soit de six à neuf heures du matin du troisième jour) correspondant à l'éclosion des frissons et jusqu'à l'acmé de l'accès (neuf heures du matin).

Et le cycle recommence.

Si, au lieu d'être simple, la fièvre tierce bénigne est double, on constate des accès quotidiens; le fait est dû à la production d'une deu-

xième génération de parasites qui évolue indépendamment de la première avec son cycle schizogonique particulier. On trouve alors réunies les deux générations d'hématozoaires, mais à des stades différents : ainsi, au début du deuxième accès quotidien, on rencontrera sur la même lame de sang : 1° des parasites au stade amiboïde venant

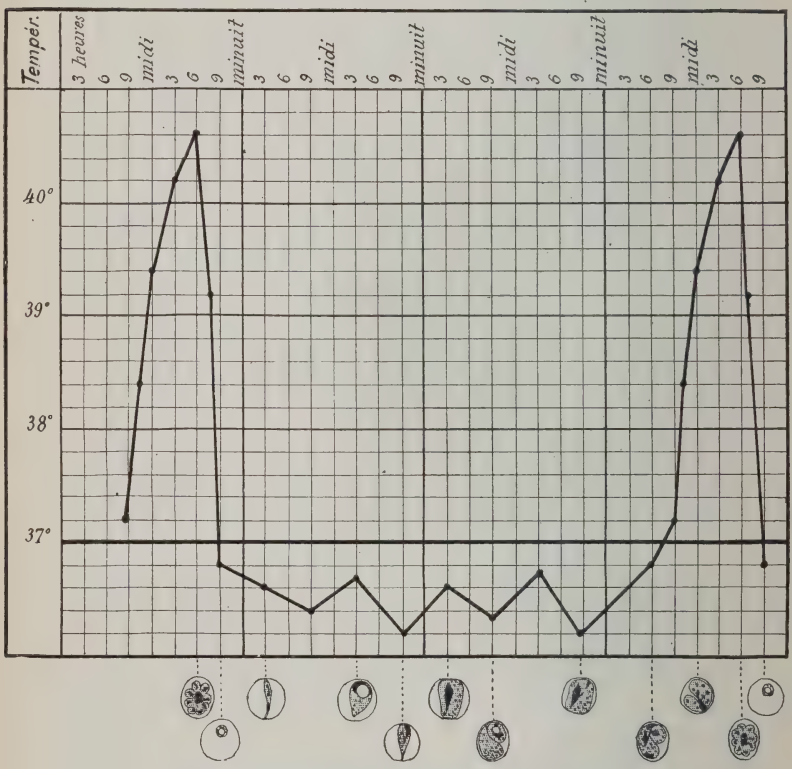


Fig. 345. — Courbe thermique d'un couple d'accès quarte simple avec les formes correspondantes d'hématozoaires (d'après A. Billet).

de la génération qui aura donné lieu à l'accès de la veille ; 2° des parasites au stade de rosace ou au stade annulaire provenant de la deuxième génération ayant provoqué l'accès du moment.

Fièvre quarte. — L'accès caractéristique de la quarte est généralement vespéral ; l'ascension thermique est insidieuse et lente, mettant plusieurs heures avant d'atteindre l'acmé fébrile, frissons

isolés et successifs; stade de chaleur assez fugace ; défervescence rapide avec sueurs plus ou moins abondantes.

La corrélation horaire est la suivante (fig. 345) :

1° Schizogonie complète de trois heures à six heures du soir dans l'exemple présent, au moment de l'acmé de l'accès : rosaces de 8 à 9 mérozoïtes.
2° Stade annulaire durant la fin de la soirée et la nuit du premier jour.
3° Stade *vermiculaire,* dans la matinée du deuxième jour.
4° Stade *piriforme* dans l'après-midi et la soirée de ce même jour.
5° Stade *quadrilatère* pendant le troisième jour.
6° Stade grégariniforme parfait et fin de l'accroissement dans la soirée du troisième jour.
7° Début de la division à la fin de ce dernier.
8° Derniers stades schizogoniques durant la nuit du troisième jour et la matinée du quatrième jour; puis rosace complète à la soixante-douzième heure pendant l'acmé de l'accès suivant qui se déclenche.

Comme pour la tierce, on peut observer des doubles quartes, voire mêmes des triples quartes.

On observe alors des accès quotidiens, et deux à trois générations de parasites qui se superposent au moment d'un seul et même examen.

Tierce maligne (f. tropicale, f. active, automnale). — L'ascension thermique de l'accès est assez rapide, avec frissons plus ou moins accusés (parfois absents). Elle atteint un premier paroxysme au bout de deux à trois heures, puis, après une légère rémission, son paroxysme réel six heures après; la fièvre avec son stade de chaleur se maintient encore près de six heures, puis la défervescence s'effectue en saccades avec des sueurs profuses (parfois absentes) durant la soirée de ce premier jour, pour n'atteindre la température normale que le matin du deuxième jour. La période apyrétique est de courte durée, car le troisième jour l'accès se renouvelle à la même heure que le précédent.

La correspondance horaire des stades évolutifs de l'hématozoaire est la suivante (fig. 346) :

1° Schizogonie complète, et mise en liberté des mérozoïtes, dans le cas présent, à trois heures du soir, au moment du paroxysme réel.
2° Stade *paraglobulaire* d'une durée de douze à quinze heures, se prolongeant par conséquent jusqu'à six heures du matin du deuxième jour.
3° Stade *intraglobulaire,* apparition des grains de Maurer, et développement complet entre la trentième et trente-sixième heure (soit de neuf heures du soir du deuxième jour à trois heures du matin du troisième jour).
4° Début des phénomènes de division à partir de ce moment, puis

rosace, dissociation des trente-deux mérozoïtes le troisième jour à la quarante-huitième heure (trois heures du soir). Et nouveau cycle.

Comme dans les types fébriles précédents, une deuxième génération de parasites peut se surajouter à la première, et s'intercaler

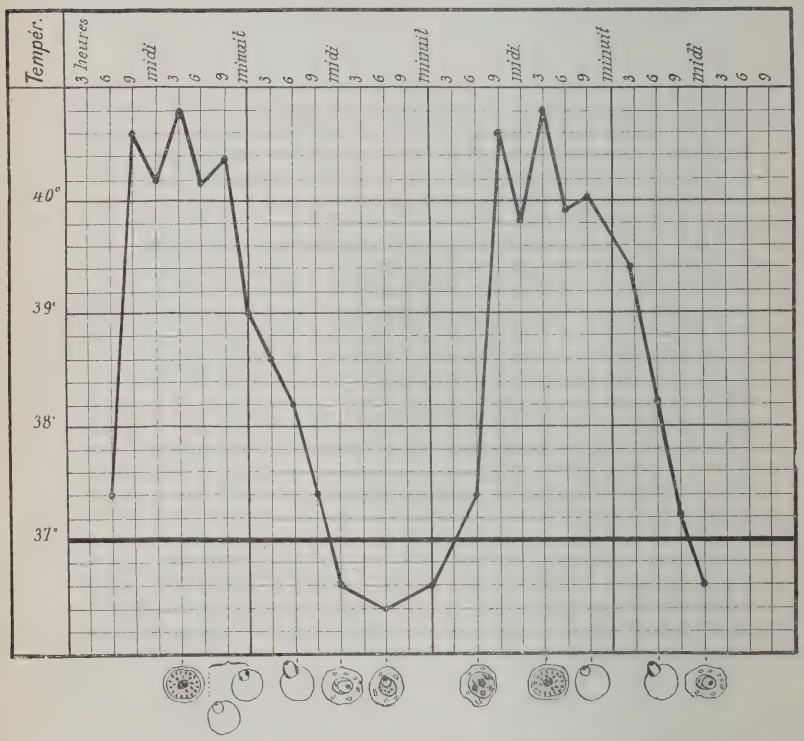


Fig. 346. — Courbe thermique d'un couple d'accès de tierce maligne simple avec les formes correspondantes d'hématozoaires (d'après A. Billet).

pendant la période apyrétique ; il en résulte, ici encore, des accès intercalaires qui donnent à la fièvre un type quotidien, n'étant autre cependant qu'une *double tierce maligne*.

Une même préparation de sang montrera encore des parasites à des stades différents. Ces aspects sont encore plus différents quand on se trouve en présence d'*accès subintrants*, dont l'expression fébrile est le type rémittent, subcontinu ou même continu.

Il résulte de l'exposé qui précède que dans les cas simples « à une heure donnée de la courbe thermique, chaque type d'hématozoaires présente une forme donnée, correspondant à une phase précise de son cycle évolutif » (A. Billet).

Cette notion permet dès lors, lors d'un examen de sang, de déterminer le ou les types de parasites qu'il renferme, ainsi que le stade horaire de chacun d'eux, renseignements utiles à recueillir au point de vue du mode de quininothérapie à employer et du moment où la quinine doit être administrée en vue d'en obtenir le maximum d'efficacité.

Unité ou pluralité des hématozoaires de la malaria.

Certains auteurs, frappés par les différences morphologiques présentées, à stade égal, par les divers types d'hématozoaires précédemment décrits, ont pensé pouvoir en déduire qu'il devait en exister plusieurs espèces; ils ont fait remarquer en outre, à l'appui de cette thèse, que l'inoculation à l'homme d'un type bien déterminé provoquait chez lui une infection de même forme, clinique et parasitaire.

Laveran n'admet pas la pluralité de ces parasites, morphologiquement différents. A son point de vue, il n'existe qu'un seul et unique parasite pouvant déterminer toutes les formes cliniques. Il se base sur cette constatation que, lorsque les malades ayant contracté la fièvre dite tropicale sont rapatriés dans les régions tempérées et qu'ils ont des rechutes, leur sang contient souvent de grandes formes amiboïdes identiques à celles des fièvres d'Europe. On trouve « chez un même malade, des petites formes, des grandes formes amiboïdes et des corps en croissant ».

D'ailleurs, ajoute-t-il, les types de fièvre se transforment souvent et, d'après lui, « c'est l'influence des climats qui accélère ou ralentit l'évolution du parasite et qui augmente ou diminue sa virulence. »

D'autre part, les lésions anatomo-pathologiques sont les mêmes, quelle que soit la forme clinique ou parasitaire envisagée; et la quinine agit sur chacune d'elles d'une façon identique.

Les divers types morphologiques décrits représenteraient donc *des variétés d'un même hématozoaire et non des espèces distinctes.*

A. Billet a émis sur cette question une opinion intermédiaire entre les deux précédentes : en raison des différences évidentes existant entre les parasites de la tierce bénigne et de la quarte, en raison aussi de la présence, chez un grand nombre de paludéens, de schizontes du type *præcox* pendant la première période de l'infection, rem-

placés par des schizontes des types *vivax* ou *malariæ* au cours des rechutes de l'année suivante, il admet l'existence de deux espèces d'hématozoaires : celui de la fièvre tierce et celui de la fièvre quarte ; chacun d'eux présentant une phase primaire et transitoire à petites formes, et une phase secondaire, définitive, à formes plus grandes.

L'étude approfondie qui a été faite pendant la guerre sur les paludéens de l'armée d'Orient a engagé la plupart des auteurs à se ranger à l'avis de Laveran exprimé plus haut.

ESSAIS DE CULTURE.

Jusqu'à ces dernières années, les essais de culture de l'Hématozoaire du paludisme avaient échoué. En 1912, Bass et Johns, puis Ziehmann, Thomson et Mac Lellan, H. da Rocha-Lima et Werner, Ed. et Et. Sergent, Béguet et Plantier obtinrent des résultats intéressants.

On prélève aseptiquement, dans une veine du pli du coude, 20 centimètres cubes de sang ; on défibrine dans un gros tube contenant des effilures de verre en roulant entre les mains. A l'aide d'une grosse pipette, on transvase le sang défibriné dans des tubes stériles contenant 0cc,2 de solution de glucose à 50 p. 100 par 10 centimètres cubes de sang. Transporter ces tubes au laboratoire dans des bouteilles isolantes à 38°. Placer à l'étuve à 37°.

Ed. et Et. Sergent, Béguet et Plantier ont pu ainsi, en suivant de temps à autre l'évolution des parasites, mener à terme complet une génération de *Pl. præcox*, depuis la petite forme annulaire initiale jusqu'à la formation des mérozoïtes ; ils ont même pu, en certains cas, assister à l'infection des hématies par des jeunes parasites.

Bass, puis Ziehmann auraient pu, en inactivant le sérum et en supprimant les leucocytes, constater l'évolution de deux et même de trois générations.

Les leucocytes, en effet, surtout les grands mononucléaires, possèdent dans ces cultures la propriété de phagocyter les hématozoaires, ce qui assure en partie leur disparition. Ceux qui ne subissent pas cet englobement subissent une lyse analogue à celle que produit la quinine.

Plus récemment, Chambelland a modifié le procédé de Bass de la façon suivante : 10 centimètres cubes de sang prélevés sont centrifugés lentement ; le sérum surnageant est décanté. On ne garde que le culot de globules rouges. Le sérum décanté est remplacé par un égal volume de sérum citraté ; verser ensuite dans le tube un quart de centimètre cube d'une solution stérilisée de dextrose à 50 p. 100. Porter à l'étuve à 37°.

Prélever un peu de sang à 1 millimètre de profondeur dans la couche des globules rouges. Étaler et colorer.

A l'aide de ce procédé, l'auteur n'a pu acclimater que *Pl. falciparum*.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

L'Hématozoaire du paludisme est inoculable à l'homme. Il reproduit ainsi chez lui le tableau de la malaria sous ses divers aspects

cliniques. Toutes les tentatives faites chez les animaux, même les singes, ont échoué.

L'inoculation expérimentale peut être effectuée par la piqûre de moustiques ayant sucé du sang de paludéens porteurs d'Hématozoaires. L'expérience, aujourd'hui classique, effectuée par P. Manson sur son fils, le démontre pleinement: P. Manson fit venir d'Italie des moustiques ayant piqué des paludéens. Il leur fit piquer son propre fils, qui n'avait jamais quitté l'Angleterre ; quelques jours après, le paludisme évoluait chez lui, suivant le type tierce, avec des Hématozoaires dans le sang.

Le moustique ne peut être infestant que si le parasite a suivi en lui les transformations successives nécessaires à l'envahissement des glandes salivaires par les sporozoïtes.

RECHERCHE DE L'HÉMATOZOAIRE.

Dans le sang. — *Moment où doit se faire le prélèvement du sang.* — L'Hématozoaire ne se trouve pas indifféremment à tout moment dans le sang du paludéen : tout dépend de la forme clinique de paludisme qu'il présente et aussi du traitement quinique subi antérieurement.

Le traitement quinique, en effet, fait disparaître l'Hématozoaire de la circulation générale ; les gamètes cependant échappent à la règle ; ils sont beaucoup moins sensibles à l'action de ce médicament.

Prélèvement. — Assurer l'asepsie absolue de la région où le prélèvement doit être effectué, de préférence au savon, puis à l'alcool. Ces détails ont pour but non seulement d'éviter l'infection du sujet, mais aussi d'éviter les impuretés venant de la peau, pouvant introduire dans le sang à examiner des éléments qui gêneraient l'observation. Sécher ensuite, car les liquides et la sueur altèrent les globules rouges et leur font subir des modifications qui pourraient être de nature à fausser l'interprétation.

Piquer avec une épingle flambée soit la pulpe d'un doigt de la main, soit la région para-unguéale (l'opération est moins douloureuse), soit le lobule de l'oreille (piqûre moins douloureuse encore, et donnant du sang à volonté, en plus grande abondance qu'au doigt). Presser : une gouttelette de sang se met à sourdre. On la recueille sur une lame que l'on prépare différemment, suivant que l'on veut pratiquer l'examen du sang frais, ou à l'état colore après dessiccation.

Examen à l'état frais. — Choisir une lame de verre et une lamelle bien planes. Les nettoyer préalablement à l'alcool ou à l'HCl, pour les débarrasser de toute matière grasse qui empêcherait l'uniformité de la répartition du sang entre elles deux.

Recueillir sur la lame la goutte de sang qui perle au point de la piqûre

faite précédemment, la recouvrir de la lamelle. Inutile de luter à la paraffine ; la périphérie de la préparation se dessèche légèrement et opère d'elle-même le lutage.

Observer avec un éclairage de moyenne intensité, sans éclairage Abbé (une trop grande lumière ne permettrait pas d'établir la réfringence convenable à l'examen) avec un objectif 8 ou 9 à sec de Vérick. Examiner la préparation dans les régions où les globules rouges sont vus à plat et n'adhèrent pas entre eux : dans les zones où ils sont accolés en pile et vus par la tranche, l'examen est impossible.

Ces préparations montrent divers éléments histologiques; ce sont:

a. *Les hématies.* — Elles peuvent avoir conservé leur aspect normal, mais souvent elles sont le siège d'altérations portant sur leur forme ; le globule rouge présente alors un contour irrégulier; de plus, à son intérieur, des vacuoles sont parfois perceptibles.

b. *Les leucocytes.* — Des polynucléaires et mononucléaires s'y rencontrent. A signaler particulièrement la teneur de certains polynucléaires en grains pigmentés mélaniques. Il en est de même des grands mononucléaires. Ce sont les *leucocytes mélanifères*, débarrassant le sang circulant des déchets parasitaires; les lymphocytes ne présentent pas ces caractères.

c. *Les hématozoaires.* — Suivant la forme clinique, suivant la période à laquelle le sang est examiné, on décèle les différents aspects connus : dans l'intérieur du globule rouge, on perçoit de petites taches de protoplasma pâle (fig. 348), à contour souvent imprécis, mal défini, contenant des grains de pigment noir. Ce sont les *corps sphériques* ou *amiboïdes*, reconnaissables aux mouvements qu'ils présentent, les *corps en rosace*, les *gamètes*, et, si l'examen dure vingt à trente minutes, les *corps flagellés* apparaissent aux dépens de certains de ces derniers.

Dans le sang des paludéens, on peut rencontrer exclusivement, soit l'une, soit l'autre de ces formes parasitaires. Mais fréquemment deux et même trois d'entre elles s'y trouvent associées (Voy. plus haut).

Cet examen à l'état frais, aboutissant à la constatation d'un de ces parasites, à quelque variété qu'il appartienne, suffit pour imposer le diagnostic de paludisme. Mais le praticien, surtout peu exercé à cette observation, ne saurait être trop rigoureux dans l'interprétation de ses constatations ; car les altérations globulaires peuvent donner le change avec la présence de l'Hématozoaire; il les faut bien connaître pour éviter une erreur grossière.

Certains globules rouges présentent à leur intérieur des vacuoles qu'il ne faut pas confondre avec l'Amibe de la malaria : leurs bords

sont nettement tranchés ; si elles semblent présenter parfois des mouvements, ce n'est qu'une apparence ; elles ne contiennent pas de grains de pigment ; si un doute persiste encore, il disparaîtra définitivement par l'examen du sang coloré ; l'Hématozoaire sera teinté ; la vacuole ne prendra pas le colorant.

Enfin la coloration est indispensable pour l'étude des caractères distinctifs des divers types d'Hématozoaires.

Examen après coloration. — **Étalement.** — Étaler sur une lame

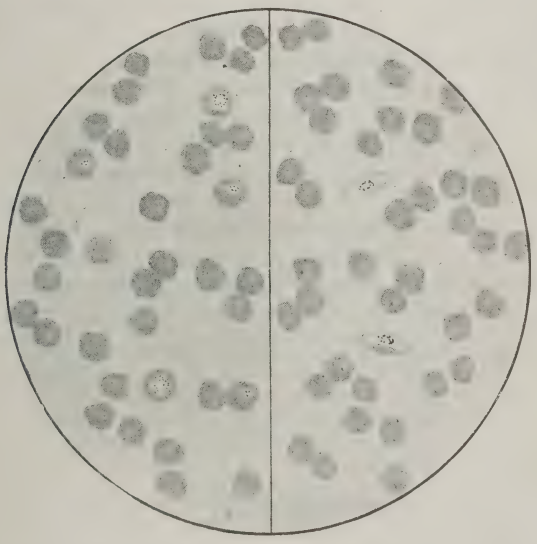


Fig. 347. — Hématozoaire du paludisme vu dans le sang à l'état frais.
A gauche : corps sphériques intraglobulaires. — *A droite* : corps en croissant.

de verre, en couche aussi mince et aussi uniforme que possible, la goutte de sang obtenue par la piqûre. Sécher rapidement pour conserver aux hématies leur aspect normal, sous peine de nouvelles erreurs. Dans ce but :

1° Chauffer légèrement à la flamme une lame de verre bien plane et bien nettoyée préalablement, de façon que sa température soit supportable à la main ;

2° Y déposer immédiatement une gouttelette de sang et l'étaler de suite.

La lame étant saisie de la main gauche, saisir une carte de visite, par exemple, ou une lamelle à bords bien rectilignes de la main droite.

L'appliquer sur la lame obliquement à l'endroit de la gouttelette, de façon que celle-ci s'étale transversalement dans l'angle dièdre formé par la lame et la carte. Puis tirer très doucement cette dernière vers la droite sans cesser de l'appuyer légèrement sur la préparation. En même temps, souffler fortement sur le sang qui s'étale ainsi progressivement pour obtenir, de concert avec la chaleur, une dessiccation rapide. Préparer ainsi huit à dix lames.

En certaines circonstances, surtout quand il s'agit de paludéens non encore traités, l'Hématozoaire est en général en assez grande abondance dans chaque préparation, et chaque champ de microscope peut en faire voir un, deux et même plusieurs exemplaires ; on peut même observer des hématies qui contiennent plusieurs Hématozoaires. Mais ces cas sont relativement peu fréquents, et bien souvent on est obligé d'examiner dix, vingt, trente champs avant d'en rencontrer un ; bien plus, ce n'est quelquefois qu'aux deuxième, troisième, cinquième préparations, et même davantage, que le parasite peut être perçu.

Aussi, quand les parasites sont rares, est-il avantageux de recourir au *procédé de la goutte épaisse* (Leishman) qui a pour but de concentrer sur une surface plus réduite le plus grand nombre possible d'Hématozoaires. Dans ce but :

Déposer sur une lame 3 à 5 gouttes de sang *que l'on n'étale pas* ; en s'étalant d'elles-mêmes, elles prennent un diamètre de 5 millimètres environ.

Laisser sécher, puis hémolyser à l'eau distillée qui décolore les hématies et respecte l'intégrité des leucocytes et des parasites. Sécher à nouveau. Colorer par les méthodes classiques.

Les parasites sont assurément moins finement colorés ; la différenciation est moins parfaite, mais suffisante néanmoins pour permettre d'établir un diagnostic de présence de l'Hématozoaire.

Fixation. — On fixe soit par l'alcool absolu pendant une demi-heure, soit par l'alcool-éther pendant un quart d'heure ; éviter surtout la fixation par la chaleur.

Avec certains colorants, dans la constitution desquels entre de l'alcool méthylique absolu (procédés de Hollande, Gombault, Tribondeau, panchrome Laveran) la fixation préalable est inutile. Elle s'effectue par le colorant lui-même.

Coloration. — Pour la coloration, employer l'un des procédés énoncés plus haut. Les préparations colorées doivent toujours être examinées à l'immersion.

Conditions essentielles de réussite. — La réussite de ces colorations dépend d'une série de détails essentiels à observer sous peine d'exposer à des mécomptes :

1° Les *lames* utilisées pour l'étalement doivent être d'une *propreté rigoureuse* ; il faut les laver longtemps à l'eau ordinaire, les nettoyer, les sécher. Il convient, d'autre part, d'éviter l'usage de lames ayant déjà servi, sinon les précipités qui se forment s'accumulent au niveau des rayures du verre.

2° L'*eau distillée* qui sert aux lavages des préparations en cours de coloration doit être rigoureusement neutre ou légèrement alcaline. Celle que délivre le commerce est souvent impure et acide, et fausse ainsi les tons que doivent donner les divers colorants. Elle doit donc toujours, avant l'usage, être éprouvée à ce point de vue.

Pour éviter cet inconvénient, plusieurs techniques ont été conseillées :

Dans la pratique, la technique employée par Laveran est suffisante ; faire bouillir l'eau distillée pendant trente minutes dans un matras de verre bien nettoyé. Le procédé de Tribondeau (redistillation au contact du carbonate d'argent) est beaucoup trop complexe pour la pratique courante des laboratoires.

Erreurs d'interprétation à éviter. — Différentes erreurs peuvent être commises après coloration ; il convient, pour les débutants, de les bien connaître, sous peine de prendre pour des Hématozoaires des artifices de préparation.

Ainsi, quand les hématies ont été mal fixées, elles renferment parfois des vacuoles à contours circulaires irréguliers, que l'on peut d'autant mieux confondre avec des Hématozoaires que leur limite est souvent marquée par une coloration bleue.

En d'autres cas, les globules rouges présentent une tache chromatique rouge qui, entourée d'une aréole claire, peut, jusqu'à un certain point, simuler un parasite ; il s'agit en ce cas d'une plaquette incluse dans un globule ou en entamant la périphérie.

On ne saurait interpréter comme des parasites des hématies déformées par une mauvaise fixation ou une dessiccation défectueuse au cours de l'étalement. Et cependant l'erreur a été commise. Il en est de même des précipités, des poussières ou des levures contenues parfois dans les matières colorantes.

En tout cas, l'interprétation doit être guidée par cette remarque de Grall et Marchoux : « *Se souvenir toujours qu'un Hématozoaire se compose de chromatine se colorant en rouge par la méthode de Romanowsky* (ou ses dérivés) *et de protoplasma qui apparaît en bleu, est un moyen d'éviter beaucoup d'erreurs* ».

CHAPITRE LXXIV

PIROPLASMES

CARACTÈRES GÉNÉRAUX.

Les piroplasmes sont des Hématozoaires endoglobulaires, responsables de diverses infections se développant chez les bovidés, les ovidés, les équidés, le chien, etc.

Ce sont en général de petits éléments arrondis, ou de préférence ovalaires, renfermant un noyau et un blépharoplaste. Ils siègent dans les hématies des animaux qu'ils infectent; on les décèle en grand nombre dans la rate, où ils peuvent se trouver en dehors des hématies.

La *coloration* s'effectue par les procédés usités pour la coloration de l'Hématozoaire du paludisme: les méthodes de Laveran, de Giemsa sont les procédés de choix. Le protoplasma présente une teinte bleutée; les éléments chromatiques de chaque parasite sont rouge violacé.

Leur *reproduction* s'effectue par schizogonie et sporogonie. Les schizontes, corps arrondis, situés dans les globules rouges ou à l'état libre dans le plasma, bourgeonnent pour donner naissance à un certain nombre de mérozoïtes. Les corps piriformes, intraglobulaires (sporontes) se reproduisent par division longitudinale. Cette reproduction est donc asexuée.

La reproduction sexuée ou sporogonie s'effectue dans l'organisme des *tiques* qui assurent la propagation des animaux malades aux animaux sains. Les sporontes se transforment en macrogamètes et microgamétocytes : les premiers sont sphériques, les derniers cunéiformes. Le zygote (microgamète fécondé) est vermiculaire.

Les piroplasmes sont *cultivables* dans du sang citraté à la température de 37°. Les parasites s'arrondissent et perdent leur chromatine ; on voit ensuite le noyau se reformer et se diviser en plusieurs corps arrondis s'entourant de protoplasma. Les corps arrondis, qui prennent l'aspect de spores, donnent dans la suite des piroplasmes sphériques, mais jamais piriformes.

La *transmission* de ces parasites s'effectue par l'intermédiaire des

tiques. Ces insectes absorbent, avec le sang, les piroplasmes qu'il contient, mais l'infestation n'a lieu que par les filles des tiques qui ont sucé le sang des animaux malades.

PIROPLASMA BIGEMINUM.

Piroplasma bigeminum est l'agent pathogène de la fièvre du Texas des bovidés (Smith et Kilborne), de l'hémoglobinurie du bœuf, qu'on a observée en Finlande et en Afrique australe, de la malaria bovine, de la *tristeza* des bovidés, sévissant en Argentine.

Cette piroplasmose se manifeste par de l'hémoglobinurie accompagnée de fièvre, d'inappétence, d'amaigrissement, de parésies diverses, d'anémie marquée avec fluidité et pâleur du sang, tous ces symptômes aboutissant presque fatalement en quelques jours à la mort. L'autopsie montre des ecchymoses sous-cutanées, une rate hypertrophiée, des reins gros et congestionnés, parfois des foyers d'hépatisation pulmonaire.

Morphologie. — *Dans le sang*, Laveran et Nicolle ont décrit le parasite sous deux aspects:

On constate, en effet, dans les hématies, des parasites arrondis, de 1 μ à 1μ,5 de diamètre; une hématie peut héberger plusieurs éléments semblables. Les plus volumineux subissent la schizogonie: le noyau s'allonge, puis se divise ainsi que le protoplasma.

En outre, on perçoit des éléments piriformes longs de 2μ,5 à 3 μ. Dans la portion renflée, se trouve le noyau avec le blépharoplaste. Lignières a vu, dans certaines formes libres, l'extrémité pointue se continuer par une sorte de flagelle.

Ces parasites piriformes (sporontes) se multiplient suivant le mode asexué, par division longitudinale. Introduits dans le tube digestif des tiques, ils subissent la sporogonie.

Dans la rate, ce sont les éléments arrondis qui dominent; ils s'y multiplient activement en dehors des cellules et envahissent les hématies à la faveur de leurs mouvements amiboïdes.

Infection expérimentale. — A part le bœuf, tous les animaux sont réfractaires à l'infection expérimentale. Chez lui, l'inoculation sous-cutanée, intraveineuse, de sang riche en *Piroplasma bigeminum* confère sûrement la maladie, qui évolue comme dans les conditions naturelles.

Transmission. — La transmission s'effectue par plusieurs variétés de tiques (*Ixodus bovis*, *Rhipicephalus decoloratus*, *Boophilus bovis*).

Immunité. — Une atteinte de piroplasmose confère l'immunité;

une inoculation virulente chez des animaux guéris de cette infection reste sans résultat. Mais leur sérum n'est doué d'aucune propriété préventive ni curative.

PIROPLASMA PARVUM.

Cet autre piroplasme infecte aussi les bœufs ; on le nomme encore piroplasme bacilliforme, La maladie revêt tantôt une allure aiguë, provoquant de la fièvre, de l'ictère, de la diarrhée sanglante, et se terminant fréquemment par la mort; ou bien elle présente une allure lente à forme cachectique avec ictère chronique.

Morphologie. — Le parasite se présente sous trois aspects :

Forme annulaire et forme bacillaire dans l'infection aiguë ; il est doué de mouvements amiboïdes ; son protoplasma contient un amas chromatique.

Aspect punctiforme dans le type cachectique ; il est alors constitué par des amas chromatiques immobiles.

Inoculation. — Les inoculations restent négatives chez tous les animaux.

Transmission. — La transmission s'effectue par des tiques (*Rhipicephalus appendiculatus*).

PIROPLASMA OVIS.

La piroplasmose du mouton se présente sous deux formes : une forme grave, mortelle, caractérisée par de l'anémie, de l'hémoglobinurie avec prostration très marquée ; une forme légère, restant souvent méconnue à cause de son allure silencieuse.

L'agent pathogène a été découvert en Roumanie par Babès. Il a été bien étudié par Bonome en Italie, par Laveran et Nicolle à Constantinople ; on l'a retrouvé dans l'Afrique australe, aux Indes, en France.

Il diffère peu du *Piroplasma bigeminum* et est transmis par les tiques du mouton (*Rhinocephalus bursa*). Une atteinte guérie assure l'immunité.

PIROPLASMA EQUI.

Les chevaux du Transvaal sont souvent atteints d'une piroplasmose analogue à celle du bœuf (Theiler) ; Thiroux l'a observée à Madagascar, Pallin dans l'Inde.

Piroplasma equi, son agent pathogène, découvert par Laveran, ressemble beaucoup à *Piroplasma bigeminum*, mais est plus petit. Il se transmet par *Rhipicephalus Evertsi*.

Le sang infecté est inoculable au cheval sain.

PIROPLASMA CANIS.

La piroplasmose du chien, fréquente en France, au Sénégal, en Afrique australe, au Tonkin, etc., est produite par *P. canis*. Elle présente une forme aiguë et une forme lente.

Dans la forme aiguë, la température s'élève à 40° ; l'anorexie est complète ;

l'ictère, l'hémoglobinurie se déclarent, la rate s'hypertrophie ; le sang est pâle et fluide ; des parésies surviennent, puis l'animal devient hypothermique et succombe entre le troisième et le dixième jour de l'affection.

La forme lente se traduit par de l'anémie, de la faiblesse musculaire, parfois de la fièvre, rarement de l'ictère et de l'hémoglobinurie.

Morphologie. — L'aspect du *P. canis* rappelle très étroitement celui de *P. bigeminum*. Dans le sang, on décèle en effet, en plus ou moins grande abondance, des parasites surtout endoglobulaires, constitués par une masse protoplasmique qui paraît condensée à la périphérie de l'élément et figure ainsi une membrane d'enveloppe ; elle est pourvue d'un noyau. Ce noyau est allongé et excentrique, ou au contraire central.

Le parasite revêt la forme ronde ou l'aspect piriforme (fig. 348).

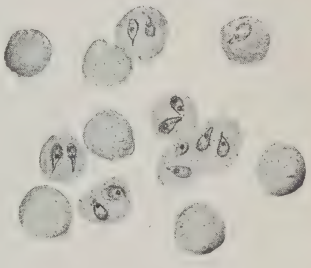


Fig. 348. — *Piroplasma cani*.

Coloration. — Les procédés dérivés de la méthode de Romanowski conviennent bien. Nocard préfère la coloration de Laveran au bleu Borrel et à l'éosine ; il y ajoute de la thionine phéniquée. Le protoplasma est bleu ; le noyau prend une teinte carmin.

Reproduction. — Les figures de reproduction s'observent mieux dans le sang des viscères que dans celui de la circulation générale. Elle s'effectue suivant le mode connu de la division longitudinale (schizogonie). Dans le tube digestif des tiques, elle s'effectue par sporogonie avec formation de zygotes, comme *P. bigeminum*.

Cultures. — Nocard n'a jamais pu arriver à cultiver ce parasite. Kleine, dans du sang défibriné dilué, a signalé des modifications d'aspect, mais sans multiplication appréciable.

Transmission. — La transmission s'effectue ici encore par des tiques (*Dermacentor reticulatus*, *Hæmaphysalis lœchi*).

Inoculations. — L'inoculation sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse, de sang ou de tissus vasculaires provoque chez le chien seul, quand ces tissus contiennent le parasite, une piroplasmose analogue à l'infection spontanée. Les parasites apparaissent dans le sang après deux jours ; les premiers symptômes prennent naissance après une incubation de cinq à six jours ; elle est plus courte en cas d'inoculation intraveineuse.

Immunité. — Une première atteinte confère l'immunité. Nocard a montré que le sérum de chiens guéris possède une action préventive faible ; pour la mettre en évidence, il faut inoculer au moins 10 centimètres cubes de sérum, et encore la mort n'est-elle pas toujours empêchée ; on n'observe le plus souvent qu'un retard dans l'évolution de l'affection.

Toutefois, si l'on renforce l'immunité des animaux guéris par des injections répétées de sang virulent, la propriété préventive du sérum devient plus marquée. Un tel sérum est encore doué de propriétés curatives s'il est injecté vingt-quatre à quarante-huit heures après une inoculation de virus tuant les témoins en cinq jours. Il est inefficace s'il intervient après l'apparition des parasites dans le sang.

CHAPITRE LXXV

ANAPLASMA MARGINALE

Anaplasma marginale, découvert par Theiler en 1908, est l'agent pathogène d'une infection qui sévit en Amérique du Sud sur les bovidés et qui se traduit par des troubles anémiques aigus sans hémoglobinurie. Elle est désignée sous le nom de « Galziekte » ou « maladie de la bile ».

L'étiologie spécifique de cette dernière a été très discutée : cette infection a tout d'abord été attribuée à tort à *Tryp. Theileri*, puis à *Piroplasma mutans*. Ces erreurs d'interprétation avaient pour cause la présence simultanée fréquente de ces parasites dans l'organisme des bovidés d'Amérique du Sud. C'est à Lignières que revient le mérite d'avoir déterminé nettement le rôle spécifique d'*Anaplasma marginale* dans l'étiologie de cette infection spéciale. Ses travaux ont pleinement démontré que, contrairement à ce qu'avaient pensé certains auteurs, ce parasite était totalement différent de *Piropl. bigeminum* avec lequel, en raison des formes de régression présentées par ce dernier, ils avaient cru pouvoir le confondre. L'Anaplasma ne représente aucunement une phase de l'évolution des piroplasmes.

Morphologie. — *Anaplasma marginale* est un parasite endoglobulaire, siégeant à la périphérie des globules rouges, soit seul, soit associé dans une même hématie, à plusieurs de ses congénères: un globule rouge peut ainsi contenir quatre à cinq parasites.

Ces derniers se montrent sous la forme de petits corps arrondis possédant les réactions de la chromatine et caractérisés par l'*absence de protoplasma*. Ils se colorent bien par la méthode de Giemsa après fixation au sublimé de Schaudinn. Cette coloration permet de déceler parfois des parasites réunis entre eux, deux à deux, par un filament (formes en haltères), et de percevoir autour de chacun une sorte de halo qui disparaît avec l'hématie, sous l'action dissolvante de solutions faibles de saponine ou de taurocholate de soude (Sieber).

Action pathogène expérimentale. — *Anapl. marginale* est inoculable aux *bovidés*; l'injection de sang d'animaux infectés pratiquée sous la peau, dans les veines ou dans les muscles reproduit la maladie. Le parasite apparaît dans le sang seize jours après l'inoculation ; au début, 2 à 3 p. 100 des hématies sont parasitées ; au vingt-cinquième jour, le taux atteint 25 p. 100. Vers le tren-

tième jour, des parasites ectoglobulaires apparaissent ; au quarantième jour le sang n'en contient plus. On le retrouve également dans la rate où il persiste après sa disparition du sang circulant. Les ganglions lymphatiques en sont dépourvus.

Lignières a montré la réceptivité des *moutons* et des *chèvres*. Ces animaux ne présentent d'ailleurs à la suite de l'inoculation aucun des symptômes, ni aucune des lésions caractéristiques de l'anaplasmose ; on note parfois cependant une hyperthermie de 40 à 41° pendant un à deux jours seulement ; de plus, aucun parasite n'est perceptible dans les hématies. Ce parasite existe cependant, car l'injection à des bovidés du sang de moutons et de chèvres ainsi infectés leur transmet l'anaplasmose.

Cette propriété spéciale a été utilisée par Lignières pour réaliser une anaplasmose pure en partant du sang d'un animal infecté à la fois par un piroplasme et l'*Anaplasma*. En effet, l'inoculation de *P. bigeminum* et *argentinum* sur les moutons et les chèvres reste négative. Il suffit dès lors d'injecter à un mouton ou à une chèvre le sang de l'animal infecté par un piroplasme et *Anaplasma*, puis, un à deux mois après, le sang du mouton ou de la chèvre à un bovidé, pour déterminer chez ce dernier une anaplasmose pure. Cette méthode peut donc être utilisée pour le diagnostic.

Les autres animaux (cobaye, lapin, porc, cheval) sont réfractaires.

Dans les conditions naturelles, l'anaplasmose se transmet d'animal à animal par *Boophilus decoloratus*.

Immunité. — Une atteinte d'anaplasmose confère une immunité très forte contre des atteintes ultérieures de cette affection ; l'immunité est nulle vis-à-vis des piroplasmoses, et *vice versa*.

Cette particularité accuse davantage les différences de spécificité qui existent entre les deux parasites.

Essais de vaccination. — Lignières a réalisé la vaccination anti-anaplasmique d'après les bases suivantes :

L'injection aux bovidés du sang de moutons et de chèvres infectés comme il a été dit détermine une anaplasmose grave ou bénigne.

Dans ce dernier cas, les bovidés acquièrent une immunité solide contre un *Anaplasma* très virulent.

En choisissant les parasites d'emblée les moins virulents, ou provenant de bovidés guéris depuis longtemps, et en les faisant passer sucessivement par le mouton ou la chèvre, on obtient une certaine fixité dans l'atténuation du parasite. Ce dernier peut être alors utilisé pour la vaccination des bovidés.

Cette méthode pratiquée sur de nombreux producteurs bovins de l'Argentine a déjà donné d'excellents résultats.

CHAPITRE LXXVI

LEISHMANIA

LEISHMANIA DONOVANI.

Leishmania Donovani est l'agent pathogène d'une affection parasitaire connue sous le nom de kala-azar indien, sévissant plus particulièrement dans l'Inde, caractérisée par de la fièvre, de l'anémie, de l'hypertrophie de la rate. Ce parasite, qui se rapproche des piroplasmes, a été découvert par Leishman dans la région de Calcutta et à la même époque par Donovan à Madras.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le parasite, nommé encore corps de Leishman-Donovan, est un élément ovalaire, rond ou piriforme, mesurant 2 à 4 μ de longueur sur 1,5 à 3 μ de large.

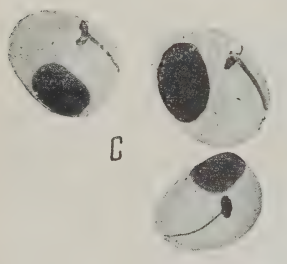


Fig. 349. — *Leishmania* amplifiés (d'après Donovan).

La coloration met sa structure en évidence: il est constitué par une masse protoplasmique non granuleuse, entourée très vraisemblablement d'une membrane d'enveloppe, d'une cuticule très mince. En un point de la périphérie de l'élément, contre la membrane d'enveloppe, un noyau est perceptible; il est placé habituellement à l'extrémité du petit diamètre; en face du noyau se trouve un centrosome qui se présente sous la forme d'un point ou, plus souvent, d'un bâtonnet très mince, disposé perpendiculairement ou parallèlement au grand axe du noyau (fig. 349).

Coloration. — *Leishmania Donovani* se colore bien par les méthodes utilisées pour l'Hématozoaire du paludisme. Ce sont les procédés dérivés de la méthode de Romanowski, principalement

ceux de Giemsa et Leishman, qui donnent les meilleurs résultats.

Une fois coloré, le parasite se présente avec le protoplasma légèrement bleuté, plus teinté à la périphérie; le noyau est violacé ; le centrosome est rouge vif.

Reproduction. — C'est dans la rate (frottis de pulpe splénique) qu'on observe le plus facilement le mode de reproduction : le parasite se multiplie par simple scission longitudinale, précédant ou suivant la division du noyau. Cette division peut être multiple ; on assiste alors à la formation de rosaces composées de trois à six éléments; les noyaux siègent à la périphérie et les centrosomes à la partie centrale de l'élément.

CULTURES.

L. Rogers est le premier qui put obtenir des cultures de *Leishmania Donovani*. Il utilisa pour cela le sang recueilli par ponction de la rate, rendu incoagulable par l'addition de citrate de soude. Plus tard, il se servit de sang humain ou de sang de lapin, auquel il ajouta une solution stérile de citrate de soude à 5 p. 100, rendue légèrement acide par l'acide citrique.

On répartit ce milieu en petits tubes. Après ensemencement du produit splénique, on porte à l'étuve à 22°.

Le développement est assez rapide, car en quarante-huit heures, la multiplication s'effectue. En suivant l'évolution, on constate que le parasite augmente de volume, puis se divise; une vacuole apparaît vers le centrosome ; le corps protoplasmique s'allonge, la vacuole atteint la surface, puis éclate, et du centrosome naît un flagelle. Ce nouveau corps très allongé, parfois en forme de grain d'orge (fig. 350), est arrondi à l'extrémité flagellaire, pointu au contraire à l'extrémité opposée. Il ne possède pas de membrane ondulante.

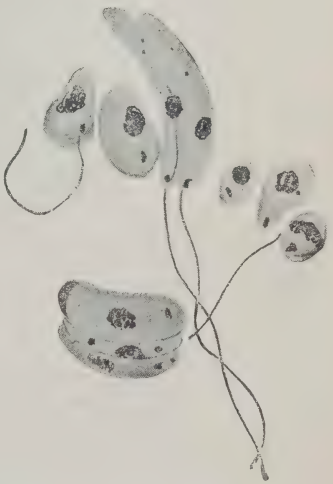


Fig. 350. — Formes de culture de *Leishmania Donovani* (d'après Christophers).

Ces cultures ne sont pas repiquables en série.

HABITAT DANS L'ORGANISME.

Leishmania Donovani siège en petite quantité dans le sang et en plus grande abondance dans les viscères, principalement la rate; il est le plus souvent intracellulaire; si quelques éléments sont perçus à l'état libre, c'est en raison de la désagrégation des cellules qui le contiennent, mais ils ne tardent pas à être phagocytés.

Dans le sang, il se rencontre presque exclusivement dans les polynucléaires ou mononucléaires : Donovan, Laveran et Mesnil ont signalé leur présence éventuelle dans les hématies, fait qui

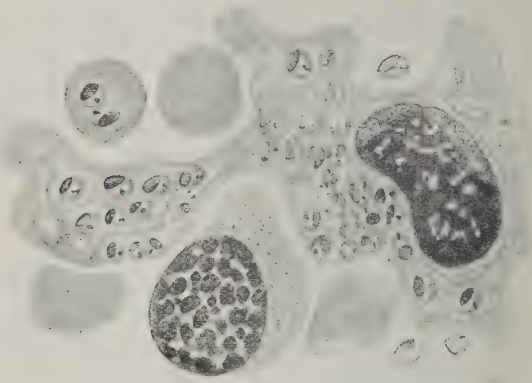


Fig. 351. — Macrophage de la rate contenant de nombreux parasites (Donovan). Gross. = 1200.

avait été nié par Cristop'ers, Rogers et Leishman; il n'arrive toutefois à envahir les globules rouges que si la température du malade atteint 39°,5 ou 40°; en ce cas, il présente une forme particulière : l'élément est petit (1 μ à 1μ,5), et ne renferme qu'une masse chromatique; il est vrai qu'il ne tarde pas à grossir et à prendre l'aspect classique; ce seraient des formes jeunes.

Dans la rate, les corps de Leishman-Donovan se rencontrent dans l'intérieur de larges cellules mononucléaires (fig. 351), dont le protoplasma en est littéralement bourré : ce sont des cellules de l'endothélium vasculaire. Laveran et Mesnil ont signalé leur présence dans une substance qu'ils désignent sous le nom de « gangue », représentant sans doute le vestige du protoplasma des mêmes cellules en dégénérescence.

Dans le foie, on perçoit le parasite dans les cellules endothéliales des vaisseaux capillaires, dont elles obstruent la lumière.

On le retrouve encore dans les *poumons*, les *reins*, les *ganglions mésentériques*, surtout dans la *moelle osseuse*.

Il siège aussi dans les *ulcérations intestinales* et les granulations qui les précèdent, de même dans les *papules* non ulcérées de la peau et les *ulcères cutanés*; il se trouve ici encore dans les cellules endothéliales des capillaires.

MODE D'INFECTION. — HOTE INTERMÉDIAIRE.

Rogers avait constaté que, dans les zones d'endémicité, le kala-azar sévissait sous forme de petites épidémies de maisons ou de familles. On pense qu'un insecte piqueur devait jouer le rôle d'intermédiaire. Patton a observé dans la punaise de l'Inde (*Cimex rotundatus*) des formes flagellées rappelant celles des cultures du parasite. Ces faits n'ont pas été confirmés par Donovan.

P. Manson fait observer que l'agent intermédiaire ne doit pas être fatalement un insecte hématophage, car le parasite est peu abondant dans le sang périphérique; les ulcérations cutanées se révèlent en assez grande quantité; pour lui, les mouches non piqueuses pourraient bien s'infecter par contact avec ces ulcères, et, en se posant sur des excoriations, porter le virus pris sur des malades. En réalité, le mode de transmission n'est pas encore connu.

RECHERCHE DU PARASITE.

Le diagnostic du kala-azar ne peut être assuré qu'après la découverte du parasite.

Dans le sang. — Prélever une goutte de sang suivant la technique habituelle. Faire des frottis suivant les indications de Donovan : l'étalement doit se terminer brusquement, en ligne droite (et non en queue), car c'est à la limite extrême de l'étalement que se rencontrent le plus grand nombre de leucocytes où doit se trouver le parasite. Fixer par l'alcool-éther. Colorer par le liquide de Giemsa.

Cummins conseille l'examen de la sérosité retirée d'une pustule obtenue par un vésicant quelconque : les leucocytes y sont très abondants.

Dans la rate et le foie. — En cas d'hypertrophie hépatique, ponctionner, avec les précautions d'usage, plutôt le foie que la rate. La ponction splénique peut occasionner une hémorragie mortelle.

Faire un frottis avec la pulpe splénique ou hépatique. Le traiter comme les frottis de sang.

LEISHMANIA INFANTUM.

Leishmania infantum est l'agent pathogène d'une forme de kala-azar qui sévit chez les enfants en Tunisie et en certaines régions du Sud de l'Italie (anémie splénique infantile fébrile). Découvert par Cathoire à Tunis en 1904, il fut étudié ultérieurement en Italie par Pianese, et en Tunisie par Ch. Nicolle et ses élèves. Lemaire

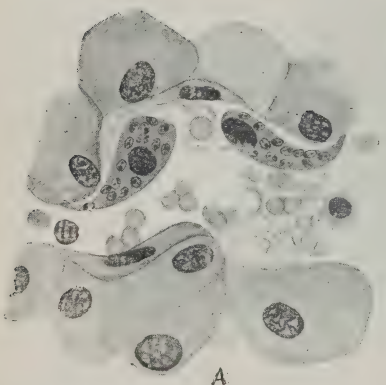


Fig. 352. — Coupe de foie. *Leishmania* dans les cellules endothéliales, Ch. Nicolle). — Gross. = 1 000.

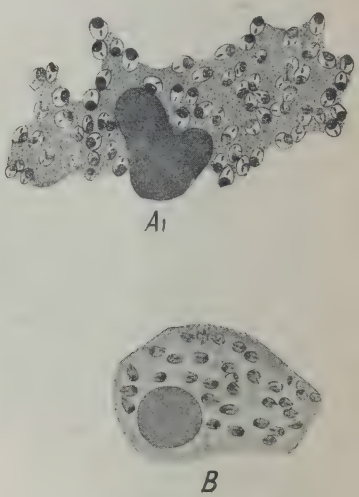


Fig. 353. — A, parasites dans la pulpe de rate d'un enfant. — B, parasites dans le foie d'un chien infecté (Ch. Nicolle). Gross. = 1 000.

l'a signalé dans la province de Constantine, Sergent et ses collaborateurs dans la province d'Alger.

Morphologie. — Au point de vue morphologique (fig. 352), *Leishmania infantum* se rapproche très étroitement de *Leishmania Donovani*.

Il ne se rencontre habituellement pas dans le sang; par contre, il est abondant dans le foie (fig. 352) et surtout la rate (fig. 353) et la moelle osseuse. Dans ces organes, on le rencontre généralement inclus dans les cellules endothéliales et les « gangues ».

Cultures. — Le parasite du kala-azar tunisien ne se cultive pas dans le milieu de Rogers. Il donne, au contraire, une culture

abondante dans le *milieu de Novy et Mac Neal*, qui n'est autre que de la gélose normale au sang (sang de lapin défibriné, 1 partie pour 2 parties de gélose); la multiplication s'effectue dans l'eau de condensation.

Ch. Nicolle prépare le milieu suivant, qui donne de meilleurs résultats :

Eau	900	grammes.
Sel marin	6	—
Gélose	14	—

La gélose a préalablement macéré dans l'eau pendant vingt-quatre heures pour être débarrassée de ses impuretés.

On répartit en tubes, et l'on ajoute un tiers de sang de lapin défibriné.

Les cultures qui apparaissent dans l'eau de condensation sont très abondantes; elles peuvent être repiquées indéfiniment. Elles se montrent à 22°, vers le septième jour.

Les parasites prennent la forme de *flagellés*. Dans les vieilles cultures, ils s'amassent pour figurer des rosaces, vers le centre desquelles se dirigent les extrémités munies des flagelles.

Action pathogène expérimentale. — Contrairement à *Leishmania Donovani*, *Leishmania infantum est inoculable au chien et au singe.*

Nicolle a montré la réceptivité du *chien* à l'action de ce parasite : l'inoculation intrapéritonéale ou intrahépatique d'un fragment de rate parasitée détermine chez lui la même affection qu'on observe chez l'enfant; la répartition du parasite est identique dans les deux cas.

L'inoculation de cultures donne des résultats négatifs.

Le *singe* (*Macacus sinicus*, *Macacus cynomolgus*) prend l'infection dans les mêmes conditions.

Chez le *cobaye* et la *souris*, Laveran et Pettit ont obtenu, par inoculation intrapéritonéale, une multiplication locale du parasite mais sans aucune généralisation.

Mode d'infection. — La réceptivité du chien à l'inoculation expérimentale a conduit Ch. Nicolle à envisager cet animal comme un réservoir possible du virus, au contact duquel l'enfant pourrait s'infecter.

Il examina 220 chiens recueillis à la fourrière de Tunis; chez 4 d'entre eux, il découvrit dans la rate et la moelle osseuse le parasite qu'il put cultiver sur son milieu. Pringault a fait des constatations identiques sur des chiens observés à Marseille.

Par conséquent, le chien contracte spontanément le kala-azar,

et il est vraisemblable d'admettre qu'il constitue ainsi un foyer d'infection pour l'homme. Sergent signale que le chat peut s'infecter à la même source.

Ch. Nicolle suppose que la contagion s'effectue par l'intermédiaire des puces. Cette hypothèse a été confirmée par C. Basile.

LEISHMANIA FURONCULOSA.

Ce parasite se rencontre dans la lésion cutanée appelée suivant la région où elle sévit : bouton d'Orient, bouton du Nil, clou de Biskra, clou de Gafsa, bouton d'Alep, bouton de Bagdad. On lui attribue à juste titre un rôle pathogène spécifique dans sa production.

Vu en 1876 par Lewis et Cunningham, il ne fut envisagé comme protozoaire qu'en 1882 par Cunningham. Les recherches ultérieures (Firth, Wright, Martsinowsky et Bogrow, Nattan-Larrier, Mesnil, Nicolle et Remlinger), en le décelant dans ces diverses productions, contribuèrent à faire affirmer leur communauté d'origine.

Leishmania furonculosa est morphologiquement semblable à *Leishmania Donovani*; aucun caractère ne permet de l'en différencier. Comme ce dernier, il est intracellulaire et se rencontre dans les polynucléaires, les grands mononucléaires, et les cellules endothéliales ou conjonctives.

Il se cultive en milieu de Novy.

Il est inoculable à l'homme. Ch. Nicolle et Sicre ont pu l'inoculer au *Macacus sinicus*. Fait curieux, un *Macacus sinicus*, guéri d'un bouton d'Orient obtenu expérimentalement, est resté réfractaire à l'inoculation, faite onze mois après, de *Leishmania infantum* (Ch. Nicolle), alors qu'un témoin fut réceptif, ce qui tendrait à démontrer l'analogie qui existe entre ces deux parasites.

CHAPITRE LXXVII

TRYPANOSOMES

Les Trypanosomes sont des Protozoaires appartenant à la classe des Flagellés. Ce sont des parasites du sang des Vertébrés.

Vus pour la première fois par Valentin (de Berne) en 1841, dans le sang de la truite, ils ont été retrouvés par Gluge, Mayer, Gruby, dans le sang de la grenouille. Des observations nouvelles les décelèrent chez le mulot, la taupe, le rat. Mais ce n'est qu'avec les travaux de Lewis, en 1878, qu'on commença à les bien connaître.

En 1880, Evans attribue à un Trypanosome un rôle spécifique dans l'étiologie du *surra* qui sévit chez le cheval et le chameau; Bruce, en 1895, fait jouer le même rôle à un autre Trypanasome dans la production du *nagana*; il écrit déjà que la mouche tsetsé est l'hôte intermédiaire chargé de propager le virus d'un animal malade à un animal sain.

Depuis, Rouget découvre le Trypanosome de la dourine; Dutton, Castellani, en 1901, celui de la maladie du sommeil, spéciale à la race humaine.

Ces découvertes ont donné naissance à des recherches sans nombre sur ces nouveaux parasites.

CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES TRYPANOSOMES.

Structure. — Tout Trypanosome est constitué par un corps protoplasmique allongé, piriforme et aplati, muni à sa partie médiane d'un *noyau* et d'un *centrosome* ou *blépharoplaste*; il est garni latéralement d'une *membrane ondulante* plissée, dont le bord libre est épaissi par la présence d'un filament libre, un *flagelle* qui émane du centrosome (fig. 354).

Fig. 354. — Trypanosome du rat (d'après Laveran et Mesnil).

A l'extrémité postérieure, une vacuole intraprotoplasmique est perceptible; on y observe des granulations chromatiques éparses.

Mobilité. — Examinés à l'état frais dans le plasma sanguin, les Trypanosomes sont mobiles; la mobilité est due aux ondu-

lations de la membrane qui produisent des mouvements de *contorsion* sur place, et aux vibrations du flagelle qui produisent la *progression* au cours de laquelle le flagelle, représentant l'extrémité antérieure, se trouve en avant. Les mouvements sont variables en intensité et en quantité, suivant les races de Trypanosomes.

Coloration. — Ces détails de structure s'accusent davantage à la faveur de la coloration élective par les procédés dérivés de la méthode de Romanowski : Giemsa, Laveran, Leishman.

Le protoplasma est teinté en bleu, le noyau en rouge; en son centre siège un caryosome; le centrosome, arrondi, est rouge; il en est de même du flagelle, auquel on reconnaît trois portions :

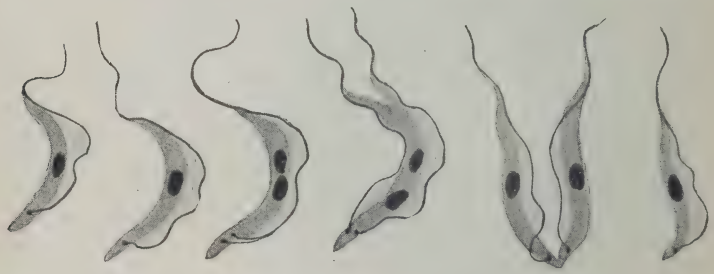


Fig. 355. — Mode de reproduction générale des Trypanosomes.

la *racine*, allant du centrosome à l'origine de la membrane ondulante; le *filament bordant*, qui longe le bord libre de cette dernière; le *flagelle libre*. La membrane ondulante, expansion du protoplasma, est colorée en bleu, comme ce dernier.

Biologie générale. — ***Reproduction.*** — *Dans le sang des vertébrés*, les Trypanosomes se reproduisent par *division longitudinale* (fig. 355). Le volume du parasite s'accroît, puis le centrosome et le noyau se divisent; la division du noyau s'opère par simple allongement de la masse chromatique, suivi de son étranglement. La racine du flagelle se divise en deux parties, chacunes d'elles se mettant en rapport avec les deux centrosomes; puis le flagelle subit un clivage qui donne naissance à deux flagelles. Enfin la masse protoplasmique subit la même division longitudinale, le tout aboutissant à la formation des deux parasites parfaits, qui finissent par se séparer (*reproduction asexuée*).

D'après Koch, Gray, Prowazek, les Trypanosomes subiraient une *reproduction sexuée dans le corps des glossines*, insectes piqueurs assurant la propagation du parasite.

Nutrition. — Il est fort probable que les Trypanosomes se nourrissent par *osmose*, leur permettant des échanges entre leur substance et le milieu nutritif où ils vivent.

Produits toxiques. — Les Trypanosomes pathogènes doivent élaborer des produits toxiques, témoin les phénomènes d'anémie constatés chez les sujets qui en sont porteurs. Mais on n'a pu mettre encore en évidence les toxines produites.

Cultures. — On obtient des cultures à 22° en milieu de Novy et Mac Neal (gélose au sang) avec les Trypanosomes non pathogènes (*Trypanosoma Lewisi*, Trypanosome des Oiseaux et des Batraciens). Ces cultures sont indéfiniment repiquables. Les Trypanosomes cultivés sont allongés, mobiles, mais dépourvus de membrane ondulante. Dans les vieilles cultures, ils s'amassent en rosace, les flagelles en occupant le centre.

Les Trypanosomes pathogènes ne sont pas cultivables.

Pouvoir pathogène. — Tous les Trypanosomes ne sont pas pathogènes. Certains, comme *Tryp. Lewisi*, *Tryp. Theileri* peuvent se rencontrer en abondance dans le sang du rat, sans provoquer le moindre trouble morbide.

Le groupe des Trypanosomes *non pathogènes* se distingue du suivant par quelques détails morphologiques et par la constance de leur virulence pour l'animal qu'ils ont infecté; puis ils ne parasitent qu'une seule espèce animale.

Les *Trypanosomes pathogènes* peuvent parasiter plusieurs espèces animales différentes. Transportés d'une espèce à une autre, ils subissent progressivement l'adaptation à cette dernière, accroissent leur virulence vis-à-vis d'elle et la perdent pour leur hôte d'origine.

Réaction vis-à-vis des sérums de sujets infectés. — Le sérum d'un animal trypanosomé, mis en contact avec un Trypanosome de la même espèce, présente vis-à-vis de ce dernier une *action trypanolytique* (Levaditi et Muttermilch). Leger et Ringenbach ont montré que cette action n'était pas rigoureusement spécifique, car les Trypanosomes d'espèce différente, étrangers à l'infection de l'animal, peuvent la subir également. Néanmoins l'existence de la réaction permet d'affirmer que l'animal infecté est réellement trypanosomiasique.

Levaditi et Muttermilch ont encore décrit le *phénomène de l'attachement*; il est plus spécifique que le précédent : mis en contact avec le sérum d'un organisme trypanosomé, le Trypanosome correspondant *s'attache* aux leucocytes prélevés sur des lapins ou des cobayes sains. Ce phénomène ne se produirait pas avec des Trypanosomes d'espèce étrangère.

TRYPANOSOMA GAMBIENSE.

Trypanosoma gambiense, découvert par Dutton en 1901, est le parasite spécifique de l'infection dénommée trypanosomiase humaine, qui, ainsi que nous le verrons, prend le masque d'une infection

Fig. 355. — *Trypanosoma gambiense* dans le sang (coloration par le Giemsa).

générale sur laquelle se greffent des lésions méningées donnant lieu à la « maladie du sommeil ».

MORPHOLOGIE.

Le parasite montre les caractéristiques suivantes (fig. 356) :

Il est long de 17 à 28 μ, large 1μ,40 à 2 μ (Laveran et Mesnil); la masse protoplasmique, allongée, contient des granulations chromatiques; le noyau a une forme ovalaire et occupe la partie médiane; le centrosome est parfois entouré d'une vacuole. Le flagelle libre présente une longueur égale au quart de la longueur du parasite. La portion libre est parfois très réduite, ou même absente; le protoplasma se prolonge alors jusqu'à son extrémité terminale ; il s'agit là de formes courtes se montrant à côté de formes longues.

La membrane ondulante est étroite et très ondulée.

Vu à l'état frais, il présente une grande mobilité ; il progresse suivant une ligne sinueuse, le flagelle en avant.

Dans la rate, on peut être appelé à observer une *forme latente*, dont l'aspect est un peu spécial ; le parasite semble se désagréger et se réduit à un simple noyau entouré d'une vacuole. Puis on assiste à la division du noyau qui met en liberté un centrosome : un flagelle prend naissance, et un nouveau Trypanosome est ainsi formé, prêt à envahir ensuite la circulation.

HABITAT ET POUVOIR PATHOGÈNE CHEZ L'HOMME.

En 1902, Dutton, qui a vu et décrit le premier ce Trypanosome, l'avait observé dans le sang d'un sujet mort d'une affection fébrile, réfractaire à la quinine, caractérisée par de la fièvre, de l'œdème de la face et des membres inférieurs, une grosse rate, de l'hypertrophie ganglionnaire, des érythèmes cutanés, de la faiblesse générale.

Des observations analogues, cliniques et bactériologiques, furent faites ultérieurement au Congo et dans l'Ouganda par Manson, Daniels, Broden, Brumpt, Forde, etc.

L'année suivante, étudiant des malades atteints de maladie du sommeil, Castellani, puis Bruce, Nabarro, Brumpt retrouvèrent un parasite identique dans le liquide céphalo-rachidien.

Divers auteurs conclurent à l'identité de ces deux parasites et admirent que la maladie de Dutton et la maladie du sommeil représentaient les phases d'une seule et même infection à Trypanosomes, la maladie du sommeil n'étant qu'un épisode surajouté, pouvant d'ailleurs ne pas se produire. En effet :

Dans de nombreux cas de maladie du sommeil, il existe des Trypanosomes dans le sang; l'observation montre ensuite que des sommeillards ont commencé par présenter tous les symptômes de la maladie de Dutton avec Trypanosomes dans la circulation. Puis, dans les deux affections, on note l'hypertrophie ganglionnaire avec Trypanosomes dans le suc des ganglions. Enfin toutes deux ont la même répartition géographique, parallèle à l'aire de distribution des glossines, dont le rôle de propagateurs du virus est indéniable.

Dans la trypanosomiase humaine, on rencontre donc *Tryp. gambiense* dans le *sang*, la *rate*, la *lymphe ganglionnaire*, le *liquide céphalo-rachidien*. Cette répartition n'est pas toujours égale d'un malade à l'autre, et même chez le même malade, aux époques successives de l'infection. C'est ainsi que le parasite peut se rencontrer dans le sang et être absent dans le liquide cérébro-spinal. Il peut aussi, dans chacun

de ces liquides, être tout d'abord abondant, puis disparaître progressivement. Il existe dans le sang circulant avant que le premier symptôme se soit déclaré.

MODE D'INFECTION.

Il est actuellement bien établi que *Glossina palpalis* est l'hôte intermédiaire, qui assure le plus fréquemment la propagation de la trypanosomiase humaine. D'après Roubaud, ce transport du virus peut être mécanique dans un certain nombre de cas (le pouvoir infectant ne serait pas alors supérieur à quarante-huit heures); mais il est le plus souvent consécutif à une évolution de longue durée dans le corps de l'insecte. Pour lui, l'introduction de Trypanosomes dans l'organisme des glossines serait suivie de deux phénomènes :

1° Culture banale dans l'intestin moyen, due à la présence du sang ingéré; elle est fugace et disparaît quand la mouche est soumise au jeûne;

2° Développement de longue durée pouvant amener une infection de tout le tube digestif, même de la trompe. C'est au moment où la trompe contient des Trypanosomes que la glossine est infectante.

D'après Tante, *Glossina morsitans* jouerait en certaines régions un rôle identique.

Enfin G. Martin, Lebœuf, Roubaud, ayant observé en des régions d'endémicité de maladie du sommeil l'absence de glossines, ont été tentés d'incriminer certains moustiques, notamment les *Stegomyia* et les *Mansonia*, qui pourraient jouer le même rôle.

POUVOIR PATHOGÈNE EXPÉRIMENTAL.

De nombreux animaux sont réceptifs à *Tryp. gambiense* : cheval, chèvre, mouton, singe, lapin, cobaye, rat, souris.

Parmi les singes, les cynocéphales sont réfractaires; les macaques au contraire, sont sensibles. D'après Thiroux, *Cercopithecus ruber* présente une sensibilité toute particulière. Chez ces animaux, l'inoculation sous-cutanée ou intraveineuse est suivie d'une infection rappelant d'assez près la trypanosomiase de l'homme; l'animal héberge de nombreux Trypanosomes dans son sang.

Par injection intrarachidienne, on peut reproduire la maladie du sommeil (Brumpt, Bruce).

Le rat blanc est un réactif très sensible, surtout après l'injection péritonéale; après quinze jours d'incubation, les parasites sont perceptibles dans le sang; chez eux, l'infection dure trois mois environ, se terminant par la guérison ou la mort.

Chez le lapin, le cobaye, les bovidés, les équidés, etc., les Trypanosomes abondent dans la circulation ; mais l'infection revêt une allure lente et peut même ne s'accompagner d'aucun trouble appréciable.

Enfin la réalisation expérimentale de la trypanosomiase humaine peut être effectuée, chez le singe notamment, par la piqûre de glossines ayant sucé du sang de malades infectés (Bruce et Nabarro).

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA TRYPANOSOMIASE HUMAINE.

Le diagnostic de la trypanosomiase humaine n'est souvent possible qu'à la faveur de la recherche du parasite ; cette dernière peut être complétée par l'examen des propriétés du sérum.

Recherche du parasite. — *Examen du sang.* — Prélever le sang par piqûre à l'extrémité du doigt, de préférence pendant un accès fébrile. L'examiner ensuite entre lame et lamelle. Cet examen à l'*état frais* permet de voir les Trypanosomes vivants et d'observer leurs mouvements. Comme ils sont parfois peu nombreux, il est bon de prolonger la recherche pendant dix à vingt-cinq minutes avant de pouvoir se prononcer d'une façon ferme et de parcourir la préparation à l'aide d'une platine mobile qui permet d'en scruter successivement toute l'étendue.

L'examen à l'état frais fait encore percevoir un phénomène important pour le diagnostic : c'est l'*auto-agglutination des hématies ;* les globules rouges sont réunis en effet en amas, formant comme des îlots au milieu du plasma sanguin. Cette auto-agglutination peut même s'observer à l'œil nu, la préparation entre lame et lamelle présentant un aspect grenu particulier.

La recherche peut être effectuée après étalement, *dessiccation*, fixation et coloration. Pour la coloration, employer les procédés de Giemsa (fig. 356), Leishman, Laveran.

Si les Trypanosomes sont rares, il convient de faire des préparations épaisses, en dissolvant l'hémoglobine par l'acide acétique à 1 p. 100 (Laveran).

A l'aide de ces méthodes simples, on obtient habituellement des résultats positifs dans 32 à 38 p. 100 des cas ; quelques auteurs ont pu les obtenir dans 50 p. 100.

L'examen du sang *après centrifugation* donne une proportion plus élevée : 90 à 95 p. 100.

Prélever le sang par ponction d'une veine du pli du coude à l'aide d'une aiguille de platine stérilisée. Le sang est recueilli directement dans un tube à centrifugation contenant préalablement 1 centimètre cube de solution

citratée. 10 centimètres cubes de sang sont ainsi soumis à trois centrifugations successives.

Par une première centrifugation, on sépare la plus grande partie des globules rouges du plasma qui renferme alors les globules blancs, les Trypanosomes et souvent des filaires. Dans ce but, G. Martin et Lebœuf conseillent d'arrêter la centrifugation vers la septième minute et de vérifier de minute en minute le moment où la séparation en deux couches est à peu près distincte. Pour qu'elle soit favorable à l'examen, la partie liquide doit tenir en suspension quelques nuages d'hématies.

Décanter et soumettre le liquide à une deuxième centrifugation pendant dix minutes. Le sédiment obtenu contient des leucocytes, une petite quantité de globules rouges, toutes les filaires et parfois quelques rares Trypanosomes

Enfin, après une troisième centrifugation de vingt minutes de ce liquide encore décanté, on obtient un dépôt qui contient quelques leucocytes et hématies et les Trypanosomes restés en suspension lors de la deuxième centrifugation.

On prélève alors le sédiment qu'on observe entre lame et lamelle ou après coloration.

Louis Martin opère plus simplement : 5 centimètres cubes de sang prélevés par ponction veineuse sont recueillis dans un volume égal d'eau physiologique additionnée de 1 p. 100 d'oxalate de potassium. Centrifuger énergiquement. La couche des hématies est surmontée d'une légère couche blanchâtre de leucocytes où se trouvent les Trypanosomes. Recueillir cette couche à l'aide d'une pipette effilée, et examiner comme précédemment.

Examen du suc ganglionnaire. — L'examen doit porter sur un ganglion nettement hypertrophié. Après asepsie de la région, on immobilise le ganglion entre le pouce et l'index de la main gauche ; de la main droite, on ponctionne à l'aide d'une aiguille de seringue. L'aiguille introduite comprime le ganglion pour en exprimer le suc qui monte par capillarité. Retirer l'aiguille ; refouler le contenu à l'aide d'une seringue bien sèche, et examiner à l'état frais entre lame et lamelle la ou les gouttes obtenues. On peut aussi faire des étalements que l'on colore par les procédés décrits.

Les Trypanosomes peuvent être abondants ou rares sans raison appréciable. En cas de résultat négatif, il est bon de renouveler la recherche sur d'autres groupes ganglionnaires. C'est dans les ganglions cervicaux qu'ils se trouvent en général en plus grand nombre.

G. Martin et Lebœuf ont enregistré par cette technique 91 p. 100 de résultats positifs.

Examen du liquide céphalo-rachidien. — Par une ponction lombaire, recueillir 20 centimètres cubes de liquide céphalo-rachidien ; ce dernier peut être louche ou clair. Centrifuger. Décanter le liquide ; là l'aide d'une pipette effilée, puiser le culot de centrifugation ; examiner sur lame à l'état frais ou après dessiccation et coloration.

Outre des lymphocytes et des grands mononucléaires, on constate des Trypanosomes, dont le nombre varie suivant les cas.

Inoculations. — Les résultats des recherches précédentes peuvent rester négatifs, et le Trypanosome être cependant présent. Les inoculations à l'animal, en faisant porter la recherche sur une plus grande quantité du produit à expertiser, permettent de mettre en évidence le parasite resté introuvable par les méthodes directes.

Inoculer sous la peau ou dans le péritoine, de préférence au *Cercopithecus ruber*, 20 centimètres cubes de sang, 10 centimètres cubes de liquide céphalo-rachidien. Après une incubation de sept à vingt-quatre jours, Thiroux et d'Anfreville ont ainsi obtenu des résultats positifs dans des cas où l'examen direct avait échoué, même après centrifugation.

La découverte du *Trypanosoma gambiense* dans un organisme, par l'une quelconque de ces méthodes, impose le diagnostic de trypanosomiase.

Examen des propriétés du sérum. — Ces recherches peuvent être complétées par la recherche de la réaction trypanolytique et du phénomène de l'attachement dont il a été question plus haut.

TRYPANOSOMA BRUCEI (TR. DU NAGANA).

Le *nagana* est une infection trypanosomiasique qui atteint, en Afrique centrale, le cheval, l'âne, le bœuf, le chien.

Morphologie. — *Trypanosoma Brucei* est long de 20 à 30 μ sur 1μ,5 à 2μ,5 de large. Il est mobile. L'extrémité postérieure est arrondie ; le protoplasma contient des granulations chromatiques ; le noyau ovoïde est central ; la membrane ondulante est fortement plissée ; le flagelle est long et robuste.

Il se multiplie par division binaire longitudinale.

Dans le sang des animaux injectés, observé *in vitro*, les parasites s'accolent entre eux pour figurer des rosaces, dans lesquelles ils se touchent par l'extrémité postérieure, les flagelles se trouvant à l'extérieur. Cette agglutination s'effectue plus rapidement à la suite de l'addition de sérum d'animal immunisé (Nocard).

Culture. — Le parasite pousse assez bien à 25° dans l'eau de condensation des tubes de gélose-sang de Novy et Mac Neal. Les Trypanosomes y sont groupés deux par deux, réunis par leur extrémité postérieure ; plus tard ils sont agglomérés en rosace.

Action pathogène expérimentale. — L'inoculation sous-cutanée, intraveineuse, intrapéritonéale, de sang riche en *Trypanosoma Brucei* reproduit facilement l'infection et entraîne la mort chez le singe, le chien, le rat, la souris, le lapin, le cobaye, le cheva

chez le bœuf, le mouton et la chèvre, l'infection prend une allure chronique qui peut aboutir à la guérison.

Mode de transmission. — La propagation de l'infection s'effectue par l'intermédiaire des mouches tsetsés ou glossines.

Immunité. — Les animaux qui guérissent du nagana sont vaccinés contre de nouvelles atteintes; injecté à des animaux neufs, leur sérum protège ces derniers contre l'action pathogène du *Tr. Brucei*.

D'après Laveran, le sérum humain possède un pouvoir préventif et curatif relatif. Chez des animaux infectés, l'injection de sérum humain fait disparaître momentanément les Trypanosomes. Inoculé à titre préventif, il peut retarder le développement du parasite, mais il ne l'empêche pas.

TRYPANOSOMA EQUIPERDUM (DOURINE).

La dourine est une affection spéciale au cheval. Elle se propage par le coït. Son agent pathogène spécifique est *Trypanosoma equiperdum*, découvert par Rouget en 1884.

Morphologie. — Long de 25 à 28 μ, large de 2 μ, il présente une extrémité postérieure bifide; le protoplasma est dépourvu de granulations : noyau médian, membrane ondulante bien plissée. Mobilité assez accusée avec mouvements de translation.

La multiplication s'effectue par division binaire longitudinale.

Tous les essais de culture ont échoué.

Action pathogène expérimentale. — On peut infecter les animaux sensibles (souris, rat blanc, lapin, chien, cheval, âne) par inoculation sous-cutanée, intraveineuse, intrapéritonéale de sang trypanosomifère, ou de sérosité sanguinolente recueillie au niveau des organes génitaux externes; de même encore il suffit de déposer sur une muqueuse excoriée la sérosité en question.

Ces faits montrent comment s'effectue la propagation par contact.

Chez le cheval, l'inoculation sous-cutanée reproduit trait pour trait la maladie contractée naturellement : œdème au point inoculé, production de plaques indurées au niveau de la région costale, de la croupe, de l'encolure, etc., anémie, paraplégie, accès épileptiformes.

Le singe, le cobaye, les bovidés, les oiseaux sont réfractaires.

Immunité. — D'après Rouget, le sang d'animal infecté, recueilli à la période ultime de la maladie, possède pour la souris un pouvoir préventif, mais est dénué de propriétés curatives.

TRYPANOSOME DU SURRA (TR. EVANSI).

Le surra est une trypanosomiase qui sévit dans l'Inde, en Indo-Chine, aux Philippines, chez le cheval, l'âne, le chameau, l'éléphant.

Le Trypanosome, agent pathogène de cette infection, a été découvert

par G. Evans en 1880. Il est morphologiquement semblable à *Trypanosoma Brucei* (fig. 357). Les cultures sont plus difficiles à obtenir qu'avec ce dernier.

Il est transmis par l'intermédiaire de certaines mouches (tabanides, stomoxes) ; on ignore toutefois s'il peut se multiplier dans l'organisme de ces mouches, comme *Trypanosoma Brucei* dans celui des glossines.

Laveran et Mesnil ont montré que des chèvres vaccinées contre le nagana étaient sensibles au Trypanosome du surra, au même titre que les animaux neufs.

TRYPANOSOME DU MAL DE CADERAS (TR. EQUINUM).

Le mal de Caderas, ou maladie de la croupe, sévit sur les chevaux en Amérique du Sud.

Trypanosoma equinum, son agent pathogène, décrit par Elmassian, est

Fig. 357. — *Trypanosoma Evansi* (surra).

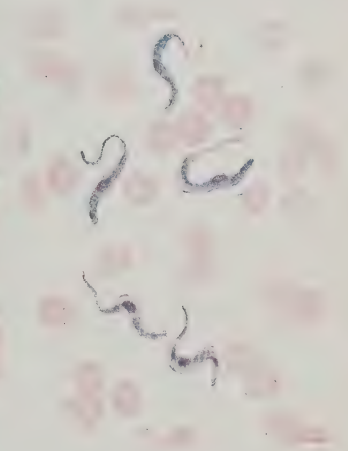


Fig. 358. — *Trypanosoma equinum* (mal de Caderas).

long de 20 à 25 μ, large de 3 à 4 μ. Identique à *Trypanosoma Evansi* et *Trypanosoma Brucei*, il en diffère cependant par la petitesse de son centrosome (fig. 358).

On observe avec lui les phénomènes d'agglutination *in vitro*.

Le parasite est inoculable aux animaux suivants : singe, chien, chat, cobaye, souris, lapin, équidés. Les bovidés, le porc, le mouton et la chèvre sont moins sensibles.

La spécificité de ce Trypanosome peut se mettre en évidence dans les recherches d'immunité croisée avec les Trypanosomes de la dourine et du nagana. Des animaux vaccinés par ces derniers restent sensibles à l'action de *Trypanosoma equinum*.

Laveran et Mesnil ont montré le pouvoir préventif du sérum humain

sur l'infection expérimentale par ce parasite. Son action curative est très limitée.

TRYPANOSOME DU RAT (TR. LEWISI).

Le Trypanosome du rat a été découvert par Lewis en 1878. Il est fréquent chez *Mus ratus*, *Mus decumanus*, *Mus rufescens*. Sa présence dans le sang de cet animal ne provoque aucun symptôme morbide, sauf parfois à la suite d'inoculations expérimentales.

Morphologie. — Examiné à l'état frais, *Trypanosoma Lewisi* se montre sous l'aspect d'un corps aplati et fusiforme : il est souvent enroulé sur lui-même ; il est extrêmement mobile ; il traverse rapidement le champ des préparations, la flagelle en avant, comme une flèche, d'où l'expression consacrée de « mouvement en flèche ».

Après coloration, on perçoit un protoplasma finement granuleux noyau ovalaire occupant le tiers antérieur du corps ; membrane ondulante,

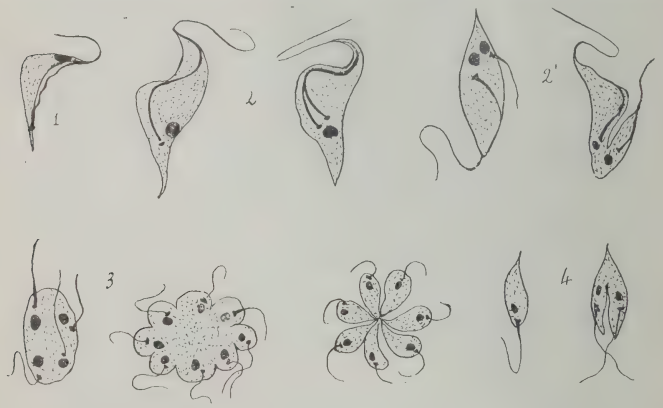


Fig. 359. — *Trypanosoma Lewisi* du rat.

1, 2, 2', différentes phases de la division ; 3, multiplication par rosaces ; 4, formes jeunes (d'après Laveran et Mesnil).

incolore, limitée par le flagelle, qui se teinte en lilas, comme le noyau et le centrosome.

Reproduction. — Les figures de multiplication s'observent de préférence dans l'exsudat péritonéal du rat inoculé avec du sang trypanosomifère depuis cinq à huit jours.

Le parasite augmente tout d'abord de volume, puis le centrosome se rapproche du noyau ; noyau et centrosome se divisent : la base du flagelle, puis tout le flagelle se clivent ; il en résulte deux flagelles ; le protoplasma se divise ensuite, pour donner lieu à deux parasites jeunes, qui ultérieurement peuvent suivre la même évolution (fig. 359).

On connaît un autre mode de reproduction : le Trypanosome s'arrondit et se montre sous l'aspect d'un corps sphérique muni de plusieurs

flagelles ; les noyaux, centrosomes, flagelles se divisent ; la périphérie de la masse protoplasmique se festonne, puis celle-ci se segmente pour figurer une rosace dont les éléments se dessoudent et représentent, une fois libres, des parasites filles qui évoluent ensuite vers le stade adulte et peuvent se diviser suivant le premier mode.

Cultures. Des cultures repiquables s'effectuent en milieu de Novy et Mac Neal à 24°. On y rencontre des formes rondes on allongées, fusiformes, ou piriformes, enfin des formes en rosace.

Injectées au rat, ces cultures produisent l'infection sanguine.

Agglutination. — Dans le sang conservé à la glacière, des amas apparaissent vers le deuxième jour, formant des rosaces où les éléments sont attachés par leur extrémité non flagellée.

Cette agglutination est pour ainsi dire instantanée et totale quand on ajoute au sang trypanosomé du sérum de cheval, de poule, de chien, de lapin, ou mieux encore du sérum de rats immunisés. Les amas se dessoudent quelques heures après la production du phénomène (Laveran et Mesnil).

Expérimentation. — Les inoculations sous-cutanées, intraveineuses, intrapéritonéales, chez le rat, reproduisent l'infection ; les parasites apparaissent dans le sang après trois à quatre jours (résultats négatifs chez les autres animaux). Le rat peut encore s'infecter par la voie gastrique.

Mode d'infection. — Le rat se contamine très probablement par la voie gastrique, en ingérant les cadavres des rats infectés. Les puces joueraient ainsi un rôle de transmission. Prowazek a incriminé *Hæmatopinus spinulosus.*

Immunité. — Un rat anciennement infecté résiste à des inoculations ultérieures. Son sérum, surtout s'il a reçu plusieurs injections, est doué de propriétés préventives chez l'animal neuf ; mais il ne possède aucun pouvoir curatif.

AUTRES TRYPANOSOMES.

On connaît encore d'autres trypanosomiases sévissant chez l'homme et les animaux en Afrique, dans l'Inde, etc.

Signalons :

Trypanosoma Theileri qui se rencontre chez les bovidés de l'Afrique australe.

Trypanosoma dimorphon (Dutton et Todd) s'observe en Sénégambie chez les chevaux ; très semblable à *Trypanosoma Brucei*, il se fait remarquer par son extrémité postérieure très élargie, qui le fait ressembler à un têtard.

Trypanosoma Cazalboui, découvert par Cazalbou chez les équidés et bovidés atteints de *Souma.*

Trypanosoma Pecaudi, qui, au Soudan, infecte les chevaux et les bestiaux atteints de *Baleri.*

Trypanosoma Congolense, qui, d'après Broden, infecte les moutons et les bovidés dans les régions de Léopoldville et Brazzaville.

Mentionnons encore *Trypanosoma Cruzi* auquel Chagas attribua en 1909 une foule d'infections aiguës et chroniques atteignant notamment des enfants en Amérique du Sud (maladie de Chagas). Ce Trypanosome est transmis par *Conorhinus megistus* qui l'ingère ; dans son estomac il prend une forme immobile qui reprend sa mobilité dans l'intestin ; il est évacué par

les déjections. Il infecte à coup sûr les vertébrés dès qu'il est en contact avec une muqueuse quelconque (buccale, oculaire, rectale) ou plus rarement en traversant l'épiderme.

Brumpt a constaté que trois espèces de punaises (*C. lectularius, C. rotundatus, C. Roueti*) et un acarien (*Ornithodorus moubata*) jouaient un rôle, mais moins important que *Conorhinus megistus*, dans les épidémies de maison.

Ce trypanosome est inoculable aux vertébrés. Le chat et le tatou contractent l'infection dans les conditions naturelles.

L'inoculation est suivie d'une pénétration du parasite dans les fibres musculaires et les fibres cardiaques, les cellules de la névroglie, etc., où il prend la forme *Leishmania*. De là, il gagne les viscères; quatre à cinq jours après, il commence à prendre l'aspect classique des Trypanosomes et envahit la circulation où il revêt la forme jeune; ce n'est qu'au bout de huit jours qu'apparaissent les formes adultes.

Chagas a pu cultiver *Tryp. Cruzi* sur gélose-sang.

Enfin on connaît maintenant les Trypanosomes des *Oiseaux* (*Trypanosoma avium*), des Vertébrés à sang froid (*Batraciens, Poissons, Reptiles*, etc.).

Tableau des principaux Trypanosomes.

	AUTEURS.	MALADIES.	ESPÈCES RÉCEPTIVES A L'INFECTION NATURELLE.	RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE.	TRANSMISSION DU PARASITE.
T. Lewisi.	Lewis, 1878.	Pas de symptômes.	Rats (*Mus ratus, M. decumanus, M. rufescens*).	Partout où se trouvent des rats réceptifs.	Puces des rats, pou du rat (Prowazek).
T. Theileri.	Theiler, 1902.		Bovidés.	Afrique australe.	?
T. Evansi.	Evans, 1880.	Surra.	Équidés, chameaux, bovidés, chiens.	Inde, Indo-Chine, Philippines, Afrique du Nord.	?
T. Brucei.	Bruce, 1894.	Nagana.	La plupart des mammifères.	Afrique en grande partie.	*Glossina morsitans* et *fusca*.
T. equiperdum.	Rouget, 1894.	Dourine.	Équidés.	Europe, Afrique du Nord, Perse, Asie Mineure.	Coït.
T. equinum.	Elmassian, 1901.	Mal de Caderas.	Équidés.	Amérique du Sud.	?
T. gambiense.	Dutton, 1901. Castellani, 1903.	Trypanosomiase humaine.	Homme.	Afrique équatoriale.	*Glossina palpalis.*
T. Dimorphon.	Dutton et Todd, 1904.	Trypanosomiase des chevaux de Gambie.	Chevaux.	Sénégambie.	?

CHAPITRE LXXVIII

MICROBES ULTRAMICROSCOPIQUES

« Les dimensions des microbes ne s'arrêtent pas justement à celles que le microscope nous permet d'apercevoir » (Roux). En 1881, Pasteur avait eu la même pensée quand il avait émis l'hypothèse que le virus rabique devait être un germe invisible. Le bien-fondé de cette hypothèse ne s'est vérifié qu'en 1898, où l'on a décrit les premiers microbes possédant ce caractère essentiel. Depuis, de multiples travaux ont révélé que de nombreuses infections relevaient de certains d'entre eux.

Après les premières recherches qui ont mis ces germes en évidence, on s'accordait à reconnaître qu'un germe dit « invisible » possédait en outre la propriété de traverser les filtres, si bien que les étiquettes « microbe invisible » et « microbe filtrant » pouvaient être considérées comme synonymes.

On sait actuellement que cette synonymie n'existe pas. En effet, certains virus invisibles ne traversent pas les filtres ; d'autre part certains microbes filtrants ont pu être décelés par l'observation microscopique directe, tel le virus de la fièvre jaune, tel aussi celui de la péripneumonie (1).

Il n'est pas inutile au préalable de fixer les conditions d'expérimentation qui permettent d'attribuer à un germe la propriété de traverser les filtres. Certaines règles relatives à la filtration sont en effet indispensables à suivre :

Cette filtration doit être effectuée rapidement et sous faible pression, car, à la longue, tout filtre finit par laisser passer les microbes : quand on place une bougie dans du bouillon ensemencé avec une eau impure, elle ne tarde pas à être traversée par des microbes mobiles.

La filtration doit être opérée avec le liquide pathologique virulent, non pas pur, mais dilué dans dix, vingt, trente fois son volume d'eau, car la présence d'une grande quantité d'albumine assure rapidement le colmatage des bougies.

La nature de la bougie est importante à envisager ; la bougie Berkefeld, en terre d'infusoires, est plus perméable aux microbes que la bougie Chamberland. Certains d'entre eux cependant traversent les bougies F et même B.

Les expériences de filtration ont besoin d'un contrôle, permettant d'établir que le filtre ne possède aucune tare et n'expose à aucune cause d'er-

(1) C'est uniquement en raison de son intérêt historique que nous faisons figurer ici le microbe de la péripneumonie dans le cadre des germes ultra-microscopiques.

reur. Aussi tous les auteurs ont-ils soin de mélanger au produit à filtrer une culture « test » qui doit être retenue par le filtre (*B. fluorescens*, choléra des poules, ou une eau de conduite ordinaire, riche en formes vibrioniennes).

Ces microbes, invisibles au microscope, sont encore imperceptibles à la culture. Exception doit être faite cependant pour certains d'entre eux, dont le microbe de la péripneumonie des bovidés, que Roux et Nocard ont pu cultiver, et que Bordet a mis ultérieurement en évidence par des colorations spéciales.

MICROBE DE LA PÉRIPNEUMONIE DES BOVIDÉS.

La péripneumonie est une affection contagieuse qui sévit sur les bovidés; elle est constituée par le développement, dans les mailles du tissu conjonctif interlobulaire, d'une quantité énorme de sérosité limpide, présentant une teinte ambrée. Cette accumulation de liquide séreux amène surtout des troubles respiratoires.

L'affection peut être aiguë ou chronique.

Elle est inoculable aux bovidés seuls; les autres animaux sont réfractaires. L'inoculation expérimentale de la sérosité sous la peau de l'*encolure* ou du *tronc* d'un veau détermine chez l'animal une fièvre intense, puis un œdème colossal, envahissant tout le tissu cellulaire sous-cutané du tronc.

L'infection, ainsi provoquée, est presque toujours mortelle.

Quand la sérosité est introduite dans le tissu cellulaire de l'extrémité de la queue, elle ne provoque qu'une affection bénigne avec œdème peu intense, se résorbant rapidement.

Nature du virus. — De nombreux germes ont été décrits, n'étant doués d'aucun caractère spécifique. En 1898, Nocard, Roux, Borrel et Salimbeni, par la méthode des sacs de collodion, mirent en évidence la nature spéciale du microbe de la péripneumonie de la façon suivante :

Une trace de lymphe péripneumonique, où le microscope ne décèle aucun germe, est ensemencée dans un sac de collodion rempli de bouillon stérile; le sac est introduit dans le péritoine d'un lapin; au bout de quinze jours, on le recueille et on aspire son contenu; ce dernier est opalescent et montre au microscope des granulations impossibles à colorer, et sur la nature desquelles on ne peut se prononcer. Après plusieurs passages en sacs, le liquide inoculé dans le tissu cellulaire reproduit la maladie expérimentale.

Les lapins ainsi traités maigrissent progressivement et finissent par succomber vers le vingtième jour, sans lésion appréciable; les organes et les humeurs restent stériles.

Dans des expériences témoins, des lapins reçoivent des sacs non ensemencés; leur contenu reste clair et les animaux ne présentent aucun trouble. Il est évident qu'une culture s'est développée dans les sacs ensemencés, que cette culture est virulente, et cependant aucun germe n'est perceptible.

Plus tard, Dujardin-Beaumetz réussit à obtenir des cultures *in vitro* à 38° dans du bouillon Martin, additionné de 6 à 8 p. 100 de sérum

de bœuf; il obtint un louche à peine sensible. En additionnant de gélose ce bouillon-sérum, on obtient un milieu solide qui, ensemencé, donne lieu à une foule de petites colonies si minimes qu'elles ne forment qu'un dépôt à la surface du milieu. Ces colonies se teintent par les matières colorantes usuelles et ne prennent pas le Gram émulsionnées dans l'eau sur une lame, elles se montrent composées de grains très ténus, dont la forme est impossible à définir. L'inoculation de ces cultures donne des résultats positifs.

S'agirait-il d'un virus filtrant?

On filtre sur bougie Berkefeld ou sur bougie F. Chamberland de la sérosité étendue de trente fois son volume d'eau. Le filtrat est ensemencé en bouillon-sérum; ce dernier donne une culture typique; on l'inocule sous la peau d'un veau; il détermine la maladie expérimentale.

On pouvait donc conclure que le virus de la péripneumonie était un virus filtrant et un germe invisible par les procédés d'investigation connus.

Des recherches récentes de Bordet, reprises par Borrel, Dujardin-Beaumetz, Jeantet et Jouan vinrent compléter les résultats précédents.

Pour essayer de cultiver le virus, Bordet utilisa la gélose sanglante contenant de l'extrait de pomme de terre et de la glycérine, comme pour la culture du Bacille de la coqueluche. Après vingt-quatre à quarante-huit heures d'étuve à 37°, le milieu prend une teinte noirâtre le long de la strie d'ensemencement. Il ne se forme aucune culture apparente; cependant, en frottant la surface avec une fine baguette de verre, on ramène de quoi faire une préparation. On émulsionne dans une gouttelette d'eau, on fixe par l'alcool absolu.

La coloration au Giemsa permet de percevoir un microbe se montrant sous l'aspect d'un filament ondulé, ou enroulé en S, formant même des spires, ressemblant, en un mot, à un spirochète.

Après repiquage en bouillon ordinaire (deux volumes) additionné d'un volume de sérum frais de lapin, on obtient des cultures opalescentes, montrant les mêmes filaments. Après plusieurs jours, on observe des formes globuleuses, des granulations à centre clair.

Borrel, Dujardin-Beaumetz, Jeantet et Jouan ont repris cette étude et ont observé ce germe à l'ultramicroscope et après surcoloration, précédée d'un mordançage par le procédé de Löffler. Pour avoir un matériel d'étude plus abondant, ils ont opéré sur le culot de centrifugation des cultures, lavé dans l'eau physiologique. Ils ont constaté ainsi un extraordinaire polymorphisme du germe en question, se montrant sous forme de diplocoque, de tétrade, de morula, de fila-

ments, de chaînettes, noyés pour ainsi dire dans une gangue visqueuse. En raison de la présence de cette gangue, des filaments à aspect pseudo-mycélien, des polarités multiples, ils lui ont donné le nom d'*Asterococcus mycoïdes*.

Ainsi donc, le virus de la péripneumonie des bovidés ne serait pas un microbe invisible, mais cependant un virus filtrant, puisque, malgré sa visibilité, il traverse les filtres.

Résistance du virus. — Le virus perd son activité sous l'influence de l'air et de la lumière; en tubes scellés, il la conserve pendant un mois, après quoi la virulence s'atténue. Cette dernière disparaît sous l'influence de la chaleur (75°); elle donne des réactions très atténuées quand la lymphe est chauffée à 55° et 65°.

Vaccination. — On sait qu'on peut obtenir chez l'animal une affection bénigne quand, au lieu d'inoculer le virus sous la peau de l'encolure ou du tronc, on pratique l'inoculation sous la peau de l'extrémité de la queue. Cette affection bénigne, ainsi provoquée, guérit et confère l'immunité.

Willems a pu, par ce procédé, vacciner les animaux à l'aide de la sérosité pulmonaire récueillie purement sur le cadavre des animaux infectés spontanément. L'inoculation peut se faire par scarifications ou par la voie sous-cutanée. Après l'inoculation, les plaies se cicatrisent; puis, vers le douzième ou quinzième jour, des symptômes généraux apparaissent : fièvre, inappétence, tristesse; la région inoculée se tuméfie, devient chaude et douloureuse; les plaies s'ouvrent et s'ulcèrent; tous ces phénomènes rétrocèdent en quinze ou trente jours. L'intensité de la réaction locale varie suivant les sujets; seuls doivent être considérés comme vaccinés ceux qui ont présenté un engorgement net. Ceux qui n'ont pas présenté cette réaction doivent subir une nouvelle inoculation vaccinale six semaines après.

VIRUS D'UNE VARIÉTÉ DE DIPHTÉRIE AVIAIRE.

Ce virus, découvert par Bordet, se rapproche du précédent par ce fait qu'il traverse les filtres, mais peut être décelé au microscope. Il est l'agent pathogène, non de la diphtérie aviaire, mais d'une variété de cette dernière (on sait en effet que la formation de fausses membranes sur les muqueuses des poules ressortit à l'act.on pathogène de germes différents).

Ce microbe atteint les limites de la visibilité; Bordet le décrit sous l'aspect d'éléments granuleux réunis en amas, se colorant bien par le Giemsa et l'encre de Löffler, prenant généralement l'aspect

d'un point ou de bâtonnets très grêles. L'ensemencement sur gélose-sang d'une émulsion de fausse membrane recueillie sur la nictitante d'une poule atteinte donne l'aspect suivant :

Il n'existe pas de culture apparente : la surface de la gélose prend seulement une teinte noirâtre. On gratte cette surface à l'aide d'un fil de platine et l'on porte ce dernier dans une gouttelette d'eau; celle-ci, mise en contact avec une muqueuse grattée préalablement, reproduit la maladie.

Carmvath estime que ce germe est identique à celui de l'épithélioma contagieux des oiseaux qu'il a pu reproduire après inoculation à la crête avec le virus recueilli dans des cas de diphtérie aviaire analogues à ceux que Bordet a décrits.

VIRUS DU TYPHUS EXANTHÉMATIQUE.

Ce sont les beaux travaux de Ch. Nicolle, Conor, Comte et Conseil qui ont récemment fait connaître la nature étiologique véritable du typhus pétéchial.

Reproduction expérimentale. — Ces auteurs ont tout d'abord établi l'inoculabilité du typhus exanthématique au singe (chimpanzé et macaque). Le chimpanzé est plus réceptif que les macaques.

On reproduit à coup sûr l'infection chez le *chimpanzé* en lui inoculant sous la peau ou dans le péritoine, 4 à 5 centimètres cubes ou même parfois seulement $0^{cc},5$ à 1 centimètre cube de sang d'homme atteint de typhus. Après une incubation de huit jours environ, la température s'élève brusquement, s'abaisse le lendemain, puis remonte les jours suivants, pour constituer un plateau durant huit à dix jours; puis la défervescence s'établit assez rapidement. Les symptômes sont assez modérés : on note de l'inappétence, l'animal est triste, le poil est hérissé, les yeux sont injectés. Enfin une éruption se déclare, à la face principalement, rappelant trait pour trait l'éruption du typhus humain.

On observe tous les degrés d'intensité, depuis les cas bénins, frustes, jusqu'aux formes les plus graves. se terminant par la mort.

L'inoculation à un animal neuf du sang d'animal infecté reproduit les mêmes phénomènes.

Le sang est virulent dans les premières heures de la fièvre; il l'est encore au deuxième jour de la convalescence.

Ch. Nicolle a observé des faits identiques avec le *bonnet chinois*, mais seulement après passage du virus humain par le chimpanzé. A retenir qu'il a pu conférer l'immunité au bonnet chinois avec le

sang recueilli deux jours avant le début de la fièvre. Le virus serait donc présent dans le sang à cette période.

Bien qu'à un moindre degré, le *cobaye* est également réceptif au virus du typhus (Ch. Nicolle, Conseil et Conor).

Quand on injecte à cet animal (voie péritonéale) des quantités variables (8, 6, 4 centimètres cubes) de sang virulent d'un typhique, on constate que les fortes doses déterminent la mort en quelques jours après un certain degré d'amaigrissement, de l'hypothermie et parfois des paralysies.

Avec de faibles doses (2 à 3 centimètres cubes), à part une légère perte de poids, on ne constate aucun symptôme apparent; mais si l'on prend régulièrement la température, on observe qu'après une incubation de dix à douze jours, l'animal présente de la fièvre continue, comparable à celle que montrent les singes inoculés; l'animal survit en général à cette infection expérimentale légère.

Bref, le typhus du cobaye se résume dans une *simple élévation de température qui ne dure que quelques jours.*

Il s'agit bien de l'infection spécifique, car :

1° Le sang d'un cobaye ainsi infecté se montre virulent pour le singe et peut fournir une longue série de passages alternatifs par les cobayes et les singes.

2° Un singe infecté avec le sang d'un malade contracte l'immunité vis-à-vis de l'inoculation ultérieure d'un virus passé par le cobaye.

Des faits identiques ont été relevés au Mexique par Gavino et Girard et confirmés par d'autres auteurs.

Pendant la période fébrile, non seulement le sang, mais tous les viscères (même après lavage prolongé à l'eau physiologique des vaisseaux dont on a ainsi chassé le sang), rate, foie, capsules surrénales, moelle osseuse, cerveau, glandes salivaires, muscles sont virulents. Une plus grande virulence semble appartenir au sang pendant les deux premiers jours, puis aux organes vers le troisième jour.

A noter que certains cobayes ainsi inoculés restent apyrétiques, et cependant leur sang se montre virulent vers le seizième ou dix-septième jour.

Enfin, chez le *lapin*, Ch. Nicolle et Blaizot ont observé le typhus expérimental à la suite d'injections intraveineuses de deux centimètres cubes d'émulsion de capsules surrénales de cobaye au trente-sixième passage. Il ne se traduit, comme chez ce dernier, que par de la fièvre : mais la durée de la période d'incubation est plus variable : elle peut atteindre trente-quatre jours, d'où la nécessité d'observer les animaux au moins pendant un temps équivalent.

Tous ces résultats d'ordre expérimental furent confirmés par de nombreux auteurs.

Répétées en des régions diverses, ces expériences montrèrent partout l'unité de nature du typhus exanthématique et permirent même de lui assimiler certaines infections mal cataloguées comme le « Tabardillo du Mexique » (Anderson et Goldberger, Ricketts et Wilder), comme aussi la maladie de Brill observée aux États-Unis.

Mode de transmission. — Ch. Nicolle, Comte et Conseil ont démontré que le typhus exanthématique se disséminait et se transmettait par les poux (*Pediculus vestimenti*). Leurs études épidémiologiques le leur avaient fait supposer; l'expérimentation le prouva nettement.

On fait piquer par des poux des singes infectés; on dépose les insectes sur des singes neufs; après une incubation de plusieurs jours ces derniers présentent une atteinte typique de typhus expérimental. Le pou ne devient infectant que du cinquième au septième jour après le repas infectant. Le virus subirait donc dans l'organisme de l'insecte une évolution particulière, pouvant seule lui conférer ce pouvoir.

Ces notions sont admises par tous les auteurs; elles ont été confirmées par les résultats heureux de la prophylaxie par le seul épouillage.

Reste à savoir comment se fait l'inoculation par le pou. Quelques auteurs estiment qu'elle est due à la piqûre du pou infecté. D'autres pensent qu'elle s'effectue par les déjections des parasites qui, riches en virus, arriveraient à souiller spécifiquement des excoriations produites à l'occasion du grattage provoqué par la démangeaison.

Après épilation du ventre d'un cobaye, Mueller et Urizio pratiquèrent de petites scarifications et badigeonnèrent la région ainsi lésée avec une émulsion de déjections de poux infectés sur l'homme. L'animal présenta au bout de dix jours les phénomènes fébriles caractéristiques du typhus expérimental, ainsi que le prouvèrent plusieurs passages positifs sur d'autres cobayes avec le sang de l'animal en expérience,

Nature du virus. — Nombreuses ont été les recherches destinées à déterminer la nature de l'agent pathogène du typhus exanthématique. Nombreux sont aussi les germes que l'on a été tenté d'incriminer comme devant jouer ce rôle.

Gotschlich a trouvé dans les hématies une espèce de piroplasme ; Thoinot et Calmette ont décelé dans le sang des flagelles. Brühl et Dubief ont isolé des voies respiratoires un diplocoque, Hlava un streptobacille, Plotz un bacille ovoïde, etc. Aucun de ces parasites n'a pu être considéré comme l'agent spécifique de cette infection.

Certaines recherches ont cependant attiré récemment l'attention d'une façon plus particulière :

En 1910, Ricketts et Wilder ont décelé, dans le sang de malades atteints de typhus exanthématique, un bâtonnet court, immobile, disposé souvent en diplobacille, se colorant davantage à ses extrémités.

Ce germe n'était pas cultivable dans les milieux ordinaires. En outre, les auteurs constatèrent constamment sa présence dans le contenu intestinal des poux infectés par succion du sang des typhiques, alors que les fèces des poux normaux ne le montrèrent que très rarement et contenaient au contraire une grande quantité de bacilles de nature banale.

Gavino et Girard au Mexique, von Prowazek à Belgrade décrivirent des microorganismes analogues.

En 1914, Edm. Sergent, Foley et Vialatte ont mis en évidence, chez les poux recueillis au cours d'une épidémie de typhus, des bacilles analogues : coccobacilles à aspect bipolaire, disposés par paires ou même par chaînettes ; ils ne les ont vus que dans les élevages de poux ayant donné à des sujets sains le typhus exanthématique; par contre, leur absence a été la règle chez les poux non infectés.

Ch. Nicolle, Blanc et Conseil retrouvent en Tunisie le même germe chez 5 p. 100 des poux récoltés dans une région indemne de typhus depuis deux ans. D'après eux, il ne peut être l'agent du typhus.

Da Rocha Lima et von Prowazek (1916) ne les rencontrent que chez les poux infectés sur des typhiques ; il leur donnent le nom de *Rickettsia Prowazeki,* et déclarent qu'ils représentent l'agent spécifique du typhus. Mêmes conclusions de Nöller, de Töppfer et Schüssler, d'Otto et Dietrich.

On estime en général, avec Brumpt, qui a constaté ces bactéries dans l'organisme de poux recueillis sur des prisonniers allemands en des régions indemnes de typhus, qu'elles n'ont aucun rapport avec la spécificité du typhus ; si elles peuvent se rencontrer dans le sang de certains typhiques, c'est qu'elles ont sans doute été inoculées par le pou sans avoir d'action pathogène ; elles peuvent être un simple *témoin de l'infestation pédiculaire* du malade.

Ch. Nicolle a pensé que le virus typhique pouvait être un *virus invisible* : L'examen du sang des malades et des animaux infectés expérimentalement n'a révélé en effet à Ch. Nicolle la présence d'aucun microorganisme ; les résultats fournis par le microscope et l'ultramicroscope restent négatifs. Il en est de même de l'hémoculture.

De plus, le sérum obtenu par simple *coagulation*, injecté au bonnet chinois après filtration, se montre immunisant et peut-être virulent. A lui seul, ce fait paraît suffisant à Ch. Nicolle pour démontrer que le virus pourrait traverser les filtres.

Par contre, le sérum obtenu par *centrifugation*, injecté aux animaux sains après filtration, n'est ni virulent, ni immunisant ; ces expériences négatives peuvent s'expliquer par ce fait que les débris cellulaires contenus dans le sang défibriné colmatent les pores du filtre. Et de fait, en séparant par centrifugation les divers éléments constitutifs du sang, Ch. Nicolle a constaté que les leucocytes étaient assurément les plus virulents ; le plasma l'est beaucoup moins, et, s'il possède encore quelque virulence, ce doit être à la faveur des débris leucocytaires qu'il véhicule ; les globules rouges lavés sont dénués de virulence. Pour lui, le virus doit être contenu dans les leucocytes. Ces derniers présentent d'abord fréquemment des lésions dégénératives pouvant être en rapport avec la présence du parasite. D'ailleurs une dose minime de ces éléments détermine une infection rapide et grave.

En 1919, à l'occasion du typhus qui sévit à Marseille, Borrel, Cantacuzène, Jonesco Mihaesti et Nasta décrivirent chez le pou nourri de sang de typhique un cocco-bacille encapsulé Gram-négatif, se colorant principalement par le Giemsa ou le panchrome ; les cultures sur gélose de Bordet se montrèrent sous la forme de colonies opalines et transparentes, avec un aspect filant caractéristique. Ils retrouvèrent ce germe à l'autopsie de plusieurs typhiques, au niveau des méninges (frottis et ensemencement). Les auteurs se gardent bien d'affirmer leur rôle spécifique.

Immunité. — Une première atteinte de typhus confère chez le singe une immunité solide, quel qu'ait été le mode d'infection ; mais il faut que la maladie ait été grave. Si elle a été légère, l'immunité n'est pas sûrement obtenue. Elle est exceptionnelle quand l'injection virulente n'a été suivie d'aucune réaction fébrile apparente.

La même immunité s'observe chez le cobaye guéri du typhus expérimental.

Cette propriété a été utilisée par divers auteurs pour établir, à l'aide des épreuves d'immunité croisée, la nature typhique d'affections diverses présentant une certaine analogie avec le typhus classique (expériences d'Anderson et Goldberger sur la maladie dite de Brill, observée aux États-Unis), de même aussi l'identité spécifique des cas de typhus de provenances les plus diverses. C'est ainsi que Ch. Nicolle a pu déterminer l'identité du virus balkanique de la retraite de Serbie et du virus africain ; Netter et Blaizot

arrivèrent à des conclusions semblables en ce qui concerne le virus africain et le virus parisien.

Propriétés agglutinantes du sérum des malades. — En 1915, Weil et Félix isolèrent de l'urine d'un malade atteint de typhus pétéchial un bacille qu'ils identifièrent avec le *Proteus vulgaris* ; bacille court, mobile, Gram-négatif, liquéfiant la gélatine, faisant fermenter les milieux glucosés, saccharosés, maltosés et mannités, et produisant de l'indol.

Ce germe, qu'ils dénommèrent *Proteus* X^2, était agglutiné par le sérum du malade à 1/200. Ils retrouvèrent le même microbe dans neuf autres cas, et constatèrent les mêmes propriétés agglutinantes du sérum de plusieurs typhiques. Au cours de leurs recherches, ils isolèrent une variété de *Proteus* qu'ils désignèrent sous le nom de *Proteus* X^{19}, semblable aux précédents, mais douée d'une agglutinabilité beaucoup plus marquée : 1/2000. En raison de ce caractère spécial, c'est le germe qu'ils utilisèrent de préférence à tout autre, et qui fut distribué dans tous les laboratoires.

Chez le typhique, cette agglutination commence à apparaître habituellement vers le quatrième ou sixième jour de l'infection ; elle subit ensuite une marche ascensionnelle, dont le maximum se manifeste vers le moment de la chute de la température, puis elle diminue d'intensité pour ne disparaître qu'après plusieurs semaines ou plusieurs mois. On peut la voir s'élever couramment à 1/400 et 1/800 dans les cas légers ; dans les cas graves, elle peut atteindre les taux de 1/1 000, 1/4 000, 1/6 000 et même 1/10 000.

Ces recherches ont fait naître diverses interprétations émises sur la signification de cette agglutination et sur sa nature.

On estima tout d'abord qu'elle avait une haute valeur étiologique ; Weil et Félix, puis Friedberger conclurent au rôle spécifique joué par le *Proteus* dans l'étiologie du typhus.

De graves objections s'opposent à cette conception. En effet : outre que ce *Proteus* ne se retrouve pas dans tous les cas de typhus exanthématique, Sacquépée et de Lavergne ont pu constater chez des blessés de guerre la présence d'un germe identique et réagissant comme le *Proteus* X^{19} vis-à-vis du sérum des typhiques.

De plus, l'inoculation des cultures du *Proteus* X^{19} au singe reproduit une infection qui n'a rien de comparable avec le typhus exanthématique expérimental.

Puis, quand on inocule simultanément au cobaye le virus exanthématique et une demi-anse de culture de *Proteus* sur gélose, on détermine deux maladies distinctes qui évoluent à dix ou douze jours d'intervalle : aussitôt après l'injection, l'animal présente de la

fièvre et une infection qui dure quelques jours ; il guérit, puis après une incubation de douze jours après l'inoculation, une nouvelle élévation de température apparaît, mais relevant cette fois du virus typhique.

L'expérience peut être conduite encore de la façon suivante : on injecte au cobaye du sang virulent de typhus ; douze jours après, on observe chez lui la fièvre caractéristique, à la suite de laquelle l'animal devient réfractaire à une réinjection de sang virulent. On lui inocule alors une anse de culture de *Proteus* X^{19} qui amène la mort, comme chez les témoins.

Ou encore :

On vaccine le cobaye contre *Proteus* X^{19} avec une faible dose de ce dernier, puis on lui injecte du virus typhique : la vaccination préalable ne le préserve pas de l'action pathogène de ce dernier.

Enfin, on peut aussi injecter préventivement au cobaye du sérum anti-X^{19} qui le protège contre une inoculation de ce germe, mais nullement contre le typhus expérimental.

Ces expériences sont donc de nature à montrer nettement que *Proteus* X^{19} n'intervient en rien dans la détermination spécifique du typhus exanthématique.

Cette agglutination pouvait alors être considérée comme celle d'un germe jouant un rôle d'association secondaire ou même de symbiose avec le virus spécifique inconnu ; hypothèse insoutenable, car le sérum des typhiques ne contient aucun anticorps vis-à-vis du *Proteus*, alors que ce dernier développe nettement une sensibilisatrice dans le sang du singe ou de l'homme qui en ont reçu expérimentalement sous la peau. Il ne saurait donc s'agir que d'une agglutinine hétérologue.

De quelle nature est donc cette agglutinine, et comment apparaît-elle dans le sérum des malades ?

Ch. Nicolle avait déjà noté que le sérum de typhiques agglutinait parfois à un taux assez élevé le *M. melitensis* ; il avait d'ailleurs pensé en tirer parti pour le diagnostic bactériologique du typhus. On fit la même remarque pour certaines races de pyocyanique ; puis on se prit à observer que chez des malades atteints de typhus, et ayant présenté auparavant des fièvres typhoïde ou paratyphoïde, le sérum, qui agglutinait déjà cette catégorie de germes, les agglutinait davantage au cours de l'infection exanthématique ; il se produit donc, en l'espèce, un *renforcement* de cette agglutination au cours du typhus pétéchial. On peut dès lors supposer que les agglutinines du *Proteus*, qui existent normalement à des dilutions plus élevées dans le sérum de tout sujet normal, subissent ce

même renforcement sous l'influence du virus du typhus exanthématique.

Diagnostic bactériologique. — Le diagnostic par les moyens de laboratoire peut être d'un secours puissant dans les cas sporadiques, dans les cas frustes, enfin quand l'affection prend des allures anormales. Il peut être réalisé par plusieurs méthodes.

1° *Inoculation au cobaye*. — Prélever 2 à 3 centimètres cubes de sang dans la veine du malade au moment de la période fébrile ; les injecter dans le péritoine de deux à trois cobayes.

Observer ces animaux qui, s'il s'agit d'un cas de typhus, présentent après dix à douze jours d'incubation une fièvre continue de quelques jours.

Il convient d'expérimenter au moins sur deux animaux, car certains d'entre eux font un typhus apyrétique.

Ce procédé a l'inconvénient de fournir une réponse tardive ; il est actuellement avantageusement remplacé par le suivant :

2° *Réaction de Weil-Félix*. — 1° Emulsionner dans 2 centimètres cubes d'eau physiologique une culture sur gélose de *Proteus* X^{19}, âgée de dix-huit heures.

2° Préparer une série de tubes à agglutination, dans lesquels on verse 1 centimètre cube de dilution du sérum à examiner à 1 p. 50, 1 p. 100, p. 200, p. 300, p. 400, p. 500 et plus s'il en est besoin.

3° Verser dans chacun 1 goutte de l'émulsion microbienne ; bien mélanger sérum et culture.

4° Porter à l'étuve à 37° pendant deux heures, puis à la température du laboratoire ; après dix-huit heures on observe les résultats.

L'examen ne peut être dit « positif » que si l'agglutination se produit au moins à 1 p. 100 ; au-dessous de ce taux il n'a aucune valeur ; en ce cas recommencer le prélèvement de sang deux à trois jours après, et ainsi de suite ; en cas de typhus on assistera ainsi, par l'établissement d'une courbe, à la marche ascensionnelle du pouvoir agglutinant du sérum du malade.

Cette épreuve peut servir aussi à poser un diagnostic rétrospectif, l'agglutination survivant un certain temps à la défervescence ; elle peut présenter un grand intérêt pour la prophylaxie.

3° *Réaction d'Ascoli*. — Braun a signalé la possibilité d'établir un diagnostic par la réaction des thermoprécipitines, décrite par Ascoli pour la diagnose de la peste et du charbon :

0cc,5 de liquide céphalo-rachidien du malade prélevés à l'acmé de l'affection sont additionnés de 2 centimètres cubes d'eau physiologique. On porte à l'ébullition pendant cinq minutes au bain-marie. Filtrer jusqu'à clarification complète.

Même opération avec un liquide céphalo-rachidien de sujets non atteints de typhus.

On fait couler le long des parois des tubes contenant ces liquides quelques gouttes du sérum du malade, et, comme témoin, du sérum de sujet normal ou atteint d'une tout autre infection.

D'après l'auteur, s'il s'agit de typhus exanthématique, on décèle au contact des deux liquides la formation d'un trouble sous forme d'un anneau.

Sérothérapie. — Le sérum de l'homme convalescent de typhus et du singe guéri du typhus expérimental possède des *propriétés préventives* vis-à-vis de la maladie humaine et de l'infection expérimentale. Ce pouvoir peut être mis en évidence avec le sérum recueilli entre les dixième et douzième jours qui suivent la défervescence ; après ce délai, il s'atténue rapidement pour disparaître après quinze à vingt jours.

Pour Legrain et Raynaud en 1895, Legrain et Treille en 1910, le sérum des convalescents serait doué de *propriétés thérapeutiques* ; une ou plusieurs injections sous-cutanées abaissent la température, calment les troubles cardiaques et généraux, et transforment un typhus grave en un typhus bénin. Sur quarante malades ainsi traités, ils n'ont enregistré que trois décès. Cette méthode paraissait donc riche en espérances. Cependant, Ch. Nicolle et ses collaborateurs n'ont pu confirmer ces résultats thérapeutiques.

En 1916, Ch. Nicolle et Blaizot ont tenté d'obtenir un *sérum curatif* en vaccinant l'âne et le cheval à l'aide de produits virulents ; ils ont procédé par inoculations intraveineuses de dépôts leucocytaires de 5 centimètres cubes de sang de cobaye infecté, puis d'émulsions de rate et de capsules surrénales virulentes et broyées.

Les essais chez *l'animal* montrent que le sérum ainsi préparé est doué de propriétés préventives et curatives.

Chez le singe et le cobaye, l'inoculation simultanée de sérum-virus n'est suivie d'aucune élévation de température, alors que les témoins contractent le typhus.

Injecté pendant la période d'incubation, le sérum s'oppose au développement de l'infection ; au premier et au deuxième jour de la fièvre, il l'arrête ; ultérieurement son action est lente, parfois douteuse et même nulle.

Chez *l'homme*, ils ont constaté tout d'abord une réduction importante de la mortalité (1 décès sur 38 cas), puis une amélioration nette dans chaque cas particulier, caractérisée par : 1° la chute rapide de la température ; 2° la diminution des signes cérébraux et

des escarres ; 3° l'amélioration rapide l'état général, et la réduction de la durée de la convalescence ; 4° l'absence totale de complications.

Le traitement doit être précoce; les injections (de 10 à 20 centimètres cubes sous la peau) doivent être renouvelées quotidiennement jusqu'à la défervescence.

VIRUS DE LA FIÈVRE TACHETÉE DES MONTAGNES ROCHEUSES (*Spotted Fever*).

La fièvre tachetée des montagnes rocheuses présente de grandes analogies avec le Tabardillo ou typhus exanthématique du Mexique. Elle s'en distingue cependant par les propriétés de son virus.

Cette affection est transmissible expérimentalement à l'homme, de même au cobaye et au singe.

Chez le cobaye, qui y est très sensible, l'infection commence à se manifester, après deux à quatre jours d'incubation, par une fièvre continue, de l'œdème des testicules et du scrotum, une hémorragie scrotale sous-cutanée, et enfin, fréquemment par une éruption de taches confluentes, rappelant celles de la maladie humaine. A l'autopsie, on constate en outre de l'hypertrophie et de la congestion des ganglions, de la rate et de la moelle osseuse.

Le singe présente des symptômes analogues auxquels s'ajoutent la cyanose de la face et de l'injection conjonctivale.

Ricketts qui a bien mis ces faits en évidence, a pu déterminer le siège du virus. Il existe dans le sang et les viscères, mais, dans ces derniers, il semble lié à la présence du sang. Dans le sang, il semble exister aussi bien dans le plasma qu'au contact avec les globules, qui restent virulents après une dizaine de lavages.

Il ne semble pas, d'après les expériences de l'auteur, que le virus traverse les filtres. Le sang filtré, injecté à forte dose, tue bien le cobaye, mais par toxicité.

Il paraît être assez labile, puisqu'un chauffage à 50° pendant une demi-heure lui enlève tout pouvoir pathogène ; à 0° il le conserve pendant quinze jours.

Le germe inconnu se transmet par plusieurs variétés de tiques : *Dermacentor venustus*, *D. modestus*, *D. marginatus*. Les mâles et les femelles sont des agents de propagation indiscutables. Les expériences de transmission d'homme à cobaye, et de cobaye à cobaye sont des plus démonstratives.

Injecté pendant la période d'incubation, le sérum des malades peut prévenir l'infection expérimentale à condition d'intervenir au plus tard au troisième jour après l'inoculation infectante.

L'action curative est assez faible ; quand l'injection thérapeutique est effectuée de bonne heure, elle atténue cependant l'intensité de l'infection.

Enfin Ricketts a tenté avec succès des essais de vaccination par sérum-virus.

D'après Anderson et Goldberger, les cobayes ne sont nullement protégés par le sérum de typhiques.

D'ailleurs un singe guéri de typhus expérimental, ayant donc l'immunité vis-à-vis de cette dernière infection, prend une infection caractéristique à la suite de l'inoculation du sang de *spotted fever*. Ces constatations prouvent la différence de nature qui existe entre ces deux affections; d'ailleurs le typhus se propage par le pou et la *spotted fever* par les tiques.

VIRUS DE LA FIÈVRE FLUVIALE DU JAPON.

La fièvre fluviale du Japon est une affection qui sévit au cœur de l'été sur les bords des rivières du Japon et de Formose. Elle est caractérisée par des éruptions cutanées, une fièvre élevée, des symptômes généraux et de l'hypertrophie ganglionnaire.

Elle est transmise par un rouget : *Akamushi*, larve d'un Acarien du genre *Trombidium*.

Les expériences de Kistashima et Miyajima ont démontré que l'affection était transmissible aux singes par inoculation sous-cutanée du sang des malades. L'incubation est de cinq à huit jours. Le sang est virulent pendant toute la période fébrile; il en est de même des organes, de la rate et des ganglions.

Le virus de passage par les singes se comporte comme le virus humain.

La nature de ce virus est encore mal définie; c'est un virus invisible, mais il ne traverse pas les filtres. Il semble qu'à l'instar du virus du typhus exanthématique il soit intraleucocytaire.

Les animaux autres que les singes sont peu sensibles. Les *cobayes* notamment ne réagissent pas aux inoculations, mais le virus se conserve dans leur organisme ; l'inoculation au singe d'une émulsion de rate de cobaye infecté reproduit l'affection ; cinq passages ont ainsi pu être réalisés chez le cobaye ; chez le *campagnol* on observe des faits identiques.

Les recherches effectuées chez ces animaux et les rougets pour déterminer quel pouvait être le germe pathogène parmi tous ceux qu'ils hébergent, sont restées douteuses.

D'après ces faits, il existe une certaine analogie entre la fièvre fluviale du Japon, la fièvre tachetée des Montagnes Rocheuses et le typhus exanthématique.

Elles sont différentes cependant, car Anderson et Goldberger ont démontré l'indépendance des deux dernières, et Ashburn et Craig celles des deux premières. D'ailleurs Kodama a constaté qu'un singe guéri soit du typhus, soit de la fièvre fluviale du Japon, n'a aucune immunité vis-à-vis de l'autre des deux maladies.

VIRUS DE LA SCARLATINE.

On a longtemps accusé le Streptocoque d'être l'agent spécifique de la scarlatine ; des recherches précises ont démontré qu'il ne jouait dans cette infection qu'un rôle d'association secondaire.

En 1911, Cantacuzène réussit à transmettre la scarlatine expérimentale à des singes inférieurs, en leur inoculant sous la peau du sang ou une émulsion ganglionnaire de scarlatineux ; plusieurs jours après, ces animaux contractent une scarlatine typique avec une éruption caractéristique et, ultérieurement, une desquamation des plus nettes.

Landsteiner, Levaditi et Prazek ont reproduit la même infection expérimentale chez le chimpanzé, en lui badigeonnant la gorge avec du dépôt amygdalien prélevé sur des enfants atteints de scarlatine.

Enfin Bernhardt, confirmant ces données essentielles, a réalisé la scarlatine expérimentale en injectant au singe du sang de scarlatineux filtré sur bougie Berkefeld.

Le virus scarlatineux traverserait donc les filtres et rentrerait dans le cadre des microbes invisibles.

En 1914, dans 12 cas sur 17 malades, Salimbeni a constaté dans le sang de scarlatineux, à côté de germes tels que le Tétragène, le Streptocoque, le Staphylocoque, un germe particulier qui ne put être rapporté à aucune des espèces décrites dans cette infection :

Sur gélose ordinaire, il donne en quarante-huit heures de petites colonies hyalines semblables à des gouttes de rosée. En bouillon ordinaire, il se forme en deux à trois jours, au fond du tube, le liquide restant clair, de petits grumeaux réunis par des filaments. Dans les milieux sucrés, ou à l'œuf, au sang, à l'ascite, le développement n'est pas plus abondant.

Ce germe est-il l'agent pathogène ? Il est impossible de l'affirmer, d'autant que les expériences sur les animaux (lapins, cobayes, singes, souris) sont restées négatives ; d'autre part, l'épreuve de la fixation du complément n'a donné aucune indication nette.

VIRUS DE LA ROUGEOLE.

Il était tout indiqué d'effectuer pour la rougeole les recherches qui avaient été poursuivies pour la scarlatine.

Anderson et Goldberger ont tout d'abord inoculé avec succès le sang et diverses humeurs de rougeoleux à des singes (*Macacus rhesus* et *Cynomolgus*) : après une période d'incubation de durée variable, ces animaux ont présenté de la fièvre pendant plusieurs jours, soit seule, soit accompagnée de larmoiement, de coryza et d'une éruption caractéristique.

La recherche du germe pathogène est restée négative, mais les auteurs ont pu déterminer que le virus morbilleux était un germe invisible et traversant le filtre Berkefeld.

Ce virus invisible serait fragile et détruit par le chauffage à 58°.

Ils ont montré, en outre, que le virus existe dans le sang pendant les premiers jours de l'éruption, et qu'il en disparaît entre la soixante-quinzième et la cent treizième heure après son début. Il existe encore dans les produits de sécrétion des glandes lacrymales, de la muqueuse nasale, pharyngée.

Ces notions essentielles ont été confirmées par plusieurs auteurs, Hektoen et Eggers, Lucas et Prizer, mais plus particulièrement par Ch. Nicolle et Conseil, qui ont constaté que la rougeole était inoculable et contagieuse vingt-quatre heures avant le début de l'éruption, constatation qui concorde avec les faits connus de contagion interhumaine.

Ces faits ont été également le point de départ de constatations intéressantes relativement à la vaccination préventive et à la sérothérapie.

En 1918, Ch. Nicolle et Conseil tentèrent la vaccination passive en injectant à un enfant indemne, placé en plein foyer épidémique, du sérum provenant d'un de ses frères convalescent de rougeole. Bien que maintenu en contact durant tout le temps de leur maladie et de leur convalescence avec ses frères qui avaient contracté la rougeole, le petit sujet demeura indemne et ne présenta même pas la moindre fièvre passagère.

En 1919, Richardson et H. Connor reprirent les essais de Nicolle et Conseil. Six enfants, ayant été en contact immédiat pendant plusieurs jours avec des rougeoleux à la période d'incubation, reçurent des injections intramusculaires de 7 à 25 centimètres cubes de sérum de convalescents ; ils furent tous préservés, tandis qu'un enfant témoin, non injecté, contracta la rougeole. Huit autres enfants exposés à un contact un peu moins intime avec les malades

et traités préventivement par le sérum restèrent également indemnes.

Rappelons à ce sujet qu'en 1915, Herman tenta d'immuniser *activement* contre la rougeole 40 enfants de moins de six mois en déposant sur leur muqueuse nasale du virus morbilleux prélevé dans le nez de rougeoleux avant l'éruption. La plupart ne présentèrent aucune réaction ; 15 eurent une fièvre légère, et quelques-uns des macules très rares. Depuis, 4 de ces vaccinés se trouvèrent en contact avec des rougeoleux sans contracter l'infection.

En 1915, Majoli fit des essais de sérothérapie préventive à l'aide du sérum de convalescents ; sous cette influence, la fièvre fut peu élevée, l'exanthème dura moins longtemps que de coutume ; aucune complication ne fut observée. Ce sont des faits à contrôler et à observer en assez grand nombre pour que l'on puisse conclure.

VIRUS DE LA POLIOMYÉLITE ÉPIDÉMIQUE.

La nature de la poliomyélite dite « paralysie infantile » était restée totalement ignorée jusqu'à ces dernières années. En 1887, Cordier en avait décrit une épidémie dans les environs de Lyon ; en 1905, Médin en a observé une nouvelle à Stockholm ; depuis, les épidémies se multiplièrent et se montrèrent en Suède, en Norvège, à New-York, en France. C'est à l'occasion de ces épidémies américaines que furent établies les premières notions concernant son étiologie véritable.

Reproduction expérimentale. — Landsteiner et Popper, puis Flexner et Lewis, Levaditi, Leiner et Wiesner démontrèrent que le chimpanzé, les singes inférieurs (*Mac. cynomolgus*, *sinicus*, *rhesus*, etc.) pouvaient contracter expérimentalement la poliomyélite.

On recueille sur un sujet mort de poliomyélite un fragment de moelle épinière ; on le triture et on l'émulsionne dans un mortier avec de l'eau physiologique, et on injecte l'émulsion dans le *péritoine* d'un singe ; après une incubation variant de cinq à douze et même vingt jours, on observe des tremblements généralisés, des parésies de certains groupes musculaires, de l'agitation et de l'incoordination des mouvements. Puis des paralysies font rapidement leur apparition. D'après Levaditi, elles revêtent un type inférieur, ascendant, rappelant le syndrome de Landry, un type supérieur, un type monoplégique. L'animal finit habituellement par succomber à ces accidents ; s'il guérit, il conserve pendant longtemps sa paralysie, avec déformation du membre et une atrophie musculaire marquée.

Les lésions anatomo-pathologiques sont étroitement parallèles à celles qu'on observe chez l'homme.

La poliomyélite peut ainsi être transmise en série de singe à singe.

L'infection s'obtient encore quand l'injection de moelle virulente est

effectuée dans le *cerveau*, la *circulation générale*, la *chambre antérieure de l'œil*. L'inoculation *sous-cutanée* est moins favorable ; l'injection dans les *nerfs périphériques* est suivie de succès ; la paralysie débute alors par les muscles du membre correspondant.

D'après des recherches récentes (Krause et Meinicke, Neisser, Lentz, Paisseau et Troisier, Mme Ginel-Tiry), la poliomyélite serait inoculable en série au lapin, qui présenterait des lésions caractéristiques.

Nature du virus. — L'examen des diverses humeurs de l'organisme avait montré l'absence de germes. Landsteiner et Levaditi, puis Flexner et Lewis, etc., ont alors recherché s'il ne s'agissait pas d'un virus invisible : en effet, si l'on injecte dans le cerveau d'un simien une émulsion de moelle virulente filtrée au filtre Berkefeld, voire même au filtre Chamberland, il contracte la poliomyélite comme dans les expériences précédentes, avec cette différence, toutefois, que la période d'incubation est plus longue.

La moelle de ce singe injectée à un autre singe lui confère la même affection ; il s'agit donc bien non d'une toxine, mais d'un germe figuré et traversant les filtres.

Flexner et Noguchi, appliquant au virus de la poliomyélite la méthode qu'ils avaient utilisée pour *Treponema pallidum*, semblent avoir pu en obtenir la culture et le mettre en évidence : ils utilisent un milieu composé de liquide d'ascite, additionné de gélose et de fragments frais de rein de lapins, le tout recouvert d'une couche d'huile de paraffine.

En culture anaérobie, ils obtiennent, après quelques jours, des colonies formées de corps globuleux isolés ou groupés en chaînettes, se colorant en rouge violet par le Giemsa, prenant faiblement le Gram.

Injectées au singe, ces cultures reproduiraient la poliomyélite expérimentale.

A l'occasion de l'épidémie de 1916, de nombreux auteurs tentèrent de confirmer ces notions nouvelles :

G. Mathers a, en de nombreux cas, isolé ce « Streptocoque globoïde » et polymorphe, du système nerveux, du sang et du liquide céphalo-rachidien des malades. Il reproduisit, chez le lapin inoculé avec ces cultures, les symptômes et les lésions de la poliomyélite.

Nuzum et Herzog ont signalé les mêmes résultats en partant d'émulsions de cerveau, d'amygdales, de moelle, de ganglions mésentériques, de sang et de liquide céphalo-rachidien.

Rosenow, Towne et Whealer ont retrouvé ce même germe : comme Willy ils auraient obtenu avec ce microbe un sérum thérapeutique efficace. Paraf, en France, l'a décelé également.

Toutefois, d'après Tsen, puis Carrolli, G. Bull, etc., ce germe ne serait qu'un saprophyte banal. Pour G. Bull notamment, ce Streptocoque serait décelable dans le système nerveux d'animaux morts d'infections étrangères à la poliomyélite ; enfin le sérum des animaux inoculés avec ce microbe ne neutraliserait jamais le virus d'une moelle virulente pour le singe.

Siège du virus. — D'après Flexner et Lewis, le virus siège dans la *moelle*, le *bulbe*, le *cerveau*, en un mot dans tout le *système nerveux central* ; dans les premiers jours, il siégerait encore dans la circulation et le liquide céphalo-rachidien ; enfin ils l'ont décelé, par les résultats positifs de l'inoculation, dans la muqueuse nasale, l'amygdale, les glandes salivaires, les ganglions mésentériques et les ganglions avoisinant le lieu de l'injection. Landsteiner et Levaditi l'ont mis en évidence dans le bulbe olfactif.

D'après Flexner et Lewis, le virus s'éliminerait par la muqueuse nasale ; l'inoculation du filtrat de cette dernière, recueilli chez un singe mort après cinq mois, a donné un résultat positif, alors que la moelle n'était plus virulente. D'après ces faits, les sujets ayant présenté une atteinte de poliomyélite doivent être dangereux pour leur entourage pendant de longs jours après le début de la maladie.

Mode de transmission. — L'expérience montre que le virus de la poliomyélite pénètre dans les organismes sains par la *voie digestive* et la *voie respiratoire*.

Leiner et Wiesner ont pu, en effet, donner la poliomyélite à des singes en leur administrant, par la bouche ou l'intestin, des moelles émulsionnées dans l'eau physiologique.

Flexner et Lewis ont déposé chez des singes du matériel virulent sur la muqueuse naso-pharyngée, préalablement scarifiée. Quelques expériences ont été couronnées de succès. Landsteiner et Levaditi supposent que, de la muqueuse, le virus se rend aux centres nerveux en suivant les filets nerveux.

Propriétés biologiques du virus. — Facilement tué par la chaleur et les antiseptiques, le virus de la poliomyélite est très résistant aux influences extérieures, notamment au froid et à la dessiccation ; Wickman en avait conclu que les objets usuels pouvaient jouer un rôle infectant.

Le lait, l'eau, additionnés de virus, peuvent conférer la poliomyélite après trente et un jours de séjour à la température du laboratoire (Landsteiner, Levaditi et Pastia).

D'après Flexner et Clark, le corps des mouches nourries avec de la moelle virulente conserve intact le virus pendant au moins vingt-quatre heures.

Immunité. — Une première atteinte de poliomyélite confère au singe l'immunité ; de plus, dans le sang des personnes et des animaux guéris, Netter et Levaditi ont mis en évidence l'existence d'anticorps spécifiques : le sérum de ces sujets neutralise en effet *in vitro* le virus de la poliomyélite ; Landsteiner et Levaditi sont arrivés d'ailleurs à obtenir chez les singes une immunité active en les vaccinant par la méthode pastorienne.

Sérothérapie. — Les recherches précédentes ont fait entrer la thérapeutique de la poliomyélite dans une voie spécifique.

Chez le singe, Flexner et Lewis avaient pu prévenir la maladie en injectant au singe, dix-huit à vingt-quatre heures après l'inoculation virulente, et à plusieurs reprises, du sérum de malades guéris.

Chez l'homme, où la poliomyélite présente une évolution moins rapide et moins grave, Netter a pu obtenir des effets curatifs intéressants, à l'aide de sérums provenant de malades ayant eu des paralysies depuis un temps variant de trois semaines à trente ans. L'injection est pratiquée par voie sous-arachnoïdienne après ponction lombaire et évacuation d'une quantité de liquide céphalo-rachidien au moins égale à la quantité de sérum que l'on veut injecter (10 à 15 centimètres cubes en général). Les injections doivent être répétées plusieurs jours de suite (6 à 8 injections quotidiennes).

L'efficacité de cette méthode n'est pas douteuse. Pratiquée dès le début, avant l'éclosion des paralysies, elle supprime presque totalement la mortalité, et diminue dans des proportions très importantes les paralysies. Appliquée à la phase des paralysies, les résultats sont moins favorables; néanmoins elle amène rapidement, sinon des guérisons complètes, du moins des améliorations très sensibles.

En raison des difficultés auxquelles on se heurte pour se procurer ce sérum humain, plusieurs auteurs ont tenté de préparer un sérum par vaccination des animaux à l'aide de l'antigène poliomyélitique.

Neustaedter et Banzhaft ont obtenu un anti-sérum de la façon suivante : de la moelle et du cerveau de sujets morts de poliomyélite sont soumis à la digestion tryptique ; le filtrat de ce mélange est injecté de temps à autre à un cheval ; au bout de cinq mois de traitement, le cheval est inoculé avec du tissu nerveux de singes poliomyélitiques. Son sérum se montre actif et neutralisant vis-à-vis du virus du singe.

Récemment A. Pettit a préparé également un sérum en injectant dans les veines d'un mouton (14 injections en cinq mois) la valeur d'une demi-moelle de singe mort poliomyélitique : 1 centimètre cube du sérum ainsi obtenu neutralise $0^{cc},5$ d'une émulsion virulente après contact de quinze minutes.

Rosenow a vacciné des chevaux à l'aide de cultures du Streptocoque polymorphe qu'il suppose être l'agent spécifique de la poliomyélite. Le sérum des chevaux s'est montré actif *in vitro* et *in vivo* à titre préventif chez le singe inoculé avec du filtrat de moelle virulente. Nuzum et Willy ont fait des essais analogues.

VIRUS DE L'ENCÉPHALITE ÉPIDÉMIQUE.

De nombreux auteurs ont cherché vainement par les procédés habituels (culture des centres nerveux, hémocultures, etc.) à mettre en évidence le virus de l'encéphalite épidémique.

Ce n'est qu'à la faveur de la reproduction expérimentale de l'infection, que la nature du virus put être soupçonnée.

Reproduction expérimentale. — En mai 1919, Strauss, Hirschfeld et Lœwe inoculent à un singe, par voie cérébrale, une émulsion de centres nerveux provenant d'un sujet mort d'encéphalite. Quelques jours plus tard, l'animal succombe, présentant, outre des lésions méningitiques, des hémorragies punctiformes de l'écorce et une infiltration périarticulaire.

En octobre de la même année, les mêmes auteurs inocu'ent avec succès au lapin le filtrat de sécrétions naso-pharyngées de malades atteints d'encéphalite.

Les expériences de Levaditi et Harvier sont arrivées à des résultats définitifs plus intéressants :

Une émulsion de substance grise, prélevée au niveau de l'écorce cérébrale d'un sujet ayant succombé à l'encéphalite, est inoculée (0^{cc},2) dans le cerveau de deux lapins et d'un singe : un des lapins mourut le huitième jour; l'examen des centres nerveux décela des lésions caractéristiques d'encéphalite de l'écorce et du mésencéphale. Les deux autres animaux restèrent indemnes.

Le cerveau du lapin ayant contracté l'infection expérimentale put servir ensuite à effectuer des passages successifs chez le lapin. Les auteurs obtinrent ainsi un virus fixe, tuant le lapin le quatrième, le cinquième ou le sixième jour, après avoir présenté des symptômes de torpeur, de myoclonie, d'irritation méningée et des lésions typiques.

Plus tard, ils établirent que le virus, après plusieurs passages sur le lapin, devient pathogène pour le *singe* et le *cobaye*.

Voies d'introduction expérimentale du virus. — En variant les voies d'inoculation, Levaditi et Harvier ont pu déterminer que le virus pouvait exercer son pouvoir pathogène quand il était introduit non seulement dans la substance cérébrale, mais

encore dans les nerfs périphériques (nerf sciatique), par voie oculaire, par voie testiculaire et enfin, fait plus intéressant au point de vue épidémiologique, par *voie nasale*; toutefois, injecté par cette voie, la muqueuse restant saine, il est dénué d'efficacité; l'expérience ne réussit que si la muqueuse est préalablement lésée par scarification ou une inflammation artificielle (badigeonnage à l'huile de croton, par exemple); les lésions sont identiques à celles qu'on obtient par la voie nerveuse directe.

Par les voies péritonéale, veineuse et trachéale, les résultats sont toujours restés négatifs. Il en est de même de la voie sous-cutanée.

On peut dès lors supposer avec Levaditi et Harvier que, chez l'homme, le virus pénètre par la muqueuse nasale préalablement irritée ou enflammée, puis gagne l'encéphale en suivant les filets nerveux du nerf olfactif, de même aussi le nerf optique : inversement il s'éliminerait en retour par la même voie. « La voie nerveuse serait donc la voie de pénétration et d'élimination du virus au niveau des fosses nasales. »

Siège du virus. — Le virus semble siéger uniquement dans les centres nerveux. Chez le lapin atteint d'encéphalite expérimentale, il en est de même; à retenir que le virus siège non seulement dans le cerveau, le mésencéphale, mais aussi dans la moelle; les expériences de Levaditi et Harvier leur ont permis également de le déceler dans la rétine (rétine disséquée aseptiquement et inoculée dans le cerveau) et dans le nerf optique.

Par contre, le virus est absent dans le sang, la moelle osseuse, le poumon, le rein, la rate, le foie et les glandes salivaires.

Nature et propriétés du virus. — Les observations microscopiques, de même que les multiples cultures effectuées sur le sang, les centres nerveux, le liquide céphalo-rachidien, les viscères, sur des milieux variés, n'ont donné que des résultats négatifs.

Il résulte des expériences de Levaditi et Harvier que le virus de l'encéphalite épidémique rentre dans la catégorie des *virus filtrants*. Il traverse assez aisément en effet les bougies Chamberland 1 et 3.

Ce virus conserve sa virulence après dessiccation dans le vide en présence d'acide sulfurique, et après dessiccation au contact de la potasse.

Ce virus ne paraît pas neutralisé par le sérum des convalescents d'encéphalite épidémique.

Enfin, contrairement à ce qu'on a pu penser, il est *totalement différent du virus de la poliomyélite*. Les expériences de Levaditi et Harvier en ont apporté la démonstration la plus évidente :

Un singe ayant résisté à des inoculations intracérébrales succes-

sives (3 injections à six à sept jours d'intervalle) reçoit du virus poliomyélitique par voie cérébrale : il succombe neuf jours après avec des signes évidents de poliomyélite.

Dans une expérience inverse, deux lapins reçoivent sous la peau, à deux reprises, 5 centimètres cubes d'une émulsion virulente de moelle poliomyélitique ; dix jours après, on leur inocule dans le cerveau une émulsion de virus d'encéphalite. Ils succombent tous deux, le quatrième et le cinquième jour, avec des lésions intenses d'encéphalite.

Il n'existe donc aucun rapport de spécificité entre les virus de la poliomyélite et de l'encéphalite. D'ailleurs les résultats de l'expérimentation parlaient déjà en ce sens puisque, à l'inverse de ce dernier, le virus de la poliomyélite est directement pathogène pour le singe et totalement dépourvu de virulence pour le lapin et le cobaye.

VIRUS DE LA RAGE.

Maladie infectieuse, transmissible par inoculation directe, la rage humaine provient de la rage des animaux et plus particulièrement du chien, du chat, du loup.

Siège du virus. — L'observation clinique, puis l'expérimentation ont fixé d'une façon précise le siège du virus rabique.

La rage survenant après morsure par un animal enragé, il était hors de doute qu'il était contenu dans la *salive*. Sa virulence fut démontrée expérimentalement en 1813 par Gruner et le comte de Salm, puis par Magendie et Breschet, qui, inoculant la salive buccale d'un homme atteint de rage à deux chiens, virent l'un d'eux devenir enragé. Hertwig démontra bientôt la virulence de la salive parotidienne. Des expériences ultérieures confirmèrent cette donnée. Nocard et Roux établirent dans la suite que la salive était virulente trois jours avant l'apparition des symptômes initiaux, à une époque, par conséquent, où la maladie n'est révélée par aucun phénomène morbide appréciable.

Le siège électif du virus rabique est assurément le *système nerveux* (Galtier, Pasteur, Chamberland et Roux). L'expérience montre que l'inoculation de fragments d'encéphale, de bulbe, de protubérance, de moelle, de liquide céphalo-rachidien, est certainement suivie de rage ; c'est le bulbe qui paraît le plus virulent. Que l'on recueille, en effet, le bulbe d'un enragé, et qu'on en inocule une parcelle sous la dure-mère (Pasteur) d'un chien ou d'un lapin, ces animaux prendront la rage après une incubation variable de douze à quinze jours.

Roux a démontré la virulence des *nerfs périphériques*, mais elle serait inconstante.

Le virus rabique se trouve encore dans le *mucus bronchique* (Paul Bert). Le *pancréas*, les *capsules surrénales*, la *glande lacrymale*, la *glande mammaire* peuvent le contenir encore.

Le sang, la lymphe, les ganglions lymphatiques, le foie, la rate, l'urine ne sont pas virulents.

Inoculation aux animaux. — L'inoculation aux animaux peut s'effectuer suivant plusieurs procédés :

Nous avons déjà vu qu'introduit après trépanation *sous la dure-mère*, le virus rabique (*virus des rues*) conférait la rage après douze à quinze jours. Le bulbe d'un lapin ainsi enragé, inoculé de la même manière à de nouveaux lapins, donne des résultats identiques, mais, au fur et à mesure des divers passages effectués, la période d'incubation diminue pour n'atteindre que six à sept jours, durée qui désormais devient fixe. C'est ce qu'on appelle le *virus fixe*.

La rage peut être encore provoquée par inoculation dans la *chambre antérieure de l'œil*.

L'inoculation *sous-cutanée* semble moins constante dans les résultats obtenus : le tissu adipeux, en effet, d'après Hermann, n'est guère favorable à l'absorption du virus : on admet d'ailleurs que les animaux gras, inoculés par cette voie, prennent moins souvent la rage que les animaux maigres. L'injection intramusculaire est plus sévère que l'injection sous-cutanée.

Résistance. — Le virus rabique, très sensible à la chaleur, est rapidement détruit par une température de 90° (Roux), en vingt-quatre heures par une température de 45°. Il résiste au contraire au froid : Gibier a conservé à — 10° pendant dix mois un cadavre de lapin rabique : son virus était encore doué de virulence.

La dessiccation anéantit rapidement cette propriété. Pasteur a obtenu l'atténuation du virus rabique, voire même sa destruction, en exposant à l'air sec à 23°, pendant six jours, une moelle de lapin : dans le vide, à la même température, la virulence est conservée pendant trente jours environ.

Nature du virus. — L'inoculabilité, la transmissibilité en série du virus rabique prouvent indiscutablement qu'il s'agit d'un être animé et vraisemblablement d'un microbe. De nombreux auteurs l'ont recherché : Pasteur avait constaté dans le tissu nerveux central la présence de corpuscules arrondis, réfringents.

Fol aurait pu isoler et même cultiver des granulations rondes observées dans les coupes de moelle. Babès aurait donné la rage après inoculation de cultures d'un microcoque venant de la sub-

stance nerveuse. Bruschettini découvre un Bacille ; Memuro un Blastomycète ; Negri, Guarnieri ont décrit des Protozoaires.

En 1903, Negri découvre dans le cerveau de chiens, puis d'hommes morts de rage, des corps particuliers (corps de Negri), surtout dans les cellules nerveuses de la corne d'Ammon. Pour lui, il s'agissait du parasite de la rage ; pour Babès, ces corpuscules sont le résultat d'une réaction de la cellule, due à l'invasion du virus rabique.

P. Bert, Nocard, Roux avaient remarqué qu'en filtrant le virus rabique sur bougie Chamberland, le filtrat était dénué de virulence, alors que le résidu restant sur le filtre conférait la rage à l'animal inoculé.

En 1903, Remlinger démontre que le filtre Berkefeld peut laisser passer le virus en question, car, avec le filtrat, il peut donner la rage aux animaux. D'après ces constatations, on était en droit de conclure qu'il s'agit d'un virus filtrant.

La filtration doit être effectuée sur un cerveau entier de lapin, broyé dans un mortier ; à la pulpe très fine obtenue, on incorpore 300 à 400 centimètres cubes d'eau. On inocule dans la dure-mère 0cc,50 à 1 centimètre cube de filtrat. On obtient ainsi 30 p. 100 de résultats positifs.

Récemment Noguchi, ensemençant du cerveau et de la moelle d'animaux (lapins, cobayes, chiens) atteints de rage expérimentale, a obtenu des corpuscules granulaires minuscules, à la limite de la visibilité ; à côté d'eux, il a constaté l'existence de « corpuscules pléomorphiques chromatoïdes » un peu plus volumineux. Ces corpuscules se colorent bien par le Giemsa.

Le milieu de culture employé a été celui que Noguchi avait utilisé pour la culture du Tréponème.

Enfin, l'inoculation des cultures au chien, au lapin, au cobaye, reproduit chez ces animaux la rage expérimentale. Les frottis de cerveau de ces derniers ont montré l'existence constante des corpuscules décrits. Ces faits semblent montrer le rôle pathogène spécifique des corps découverts par Noguchi. Il s'agirait alors d'un virus filtrant, mais non invisible.

Vaccination. — *Vaccination par virus atténué* (Pasteur). — Pasteur avait observé que les rares chiens qui survivaient à la rage expérimentale étaient devenus réfractaires à de nouvelles inoculations. De tels faits lui faisaient entrevoir la possibilité d'une vaccination préventive, d'où l'idée d'obtenir un virus incapable de tuer le chien, mais capable de lui conférer l'immunité. Il arriva au but cherché en atténuant sa virulence. Voici comme il procéda tout d'abord :

Pasteur remarqua qu'en transportant la rage du chien au singe,

au fur et à mesure qu'on effectuait ces passages, la période d'incubation de la rage conférée au singe se prolongeait, et la virulence du tissu nerveux s'affaiblissait. Par contre, elle s'exaltait en passant du singe au lapin, et la période d'incubation pour ce dernier devenait de plus en plus courte, jusqu'à ce qu'elle eût atteint le chiffre minimum de six à sept jours, taux où elle reste alors invariable (virus fixe). Il obtenait ainsi des virus d'activité différente.

En inoculant au chien, sous la peau, des moelles de virulence minime, puis progressivement croissante, l'animal devenait réfractaire; il possédait l'immunité contre un virus actif au maximum, introduit dans le cerveau, après trépanation. Ce fut l'objet d'une communication retentissante à l Institut, en 1884; devant une commission de contrôle, il fit l'expérience suivante : 19 chiens vaccinés restèrent réfractaires aux inoculations virulentes, qui amenèrent la mort de 14 chiens témoins; de plus, 23 chiens vaccinés furent impunément soumis aux morsures de chiens enragés : les témoins contractèrent la rage dans la proportion de 66 p. 100.

La grande découverte était faite, il fallait rendre la méthode pratique. En 1885, Pasteur, Chamberland et Roux annoncent le résultat de nouvelles recherches, au cours desquelles ils ont atténué le virus rabique en soumettant à la dessiccation la moelle de lapin mort du virus fixe. La technique était la suivante : dans un flacon fermé à la ouate et dont le fond renferme des fragments de potasse, on suspend les moelles; la virulence s'atténue de jour en jour; elle est nulle vers le treizième ou quatorzième jour. L'injection de ces moelles, en commençant par les moins virulentes et en continuant par celles dont la virulence est de plus en plus accusée, confère l'immunité aux animaux en expérience.

Il ne restait plus qu'à tenter la vaccination chez l'homme. Le premier essai fut tenté chez Joseph Meister, mordu par un chien enragé, et porteur de blessures multiples et profondes qui devaient entraîner fatalement la mort. J. Meister resta indemne.

Au début de ces essais, Pasteur injectait des moelles du quatorzième, puis du treizième, douzième jour, etc., jusqu'au cinquième; le traitement durait donc dix jours. Il reconnut que cette méthode était insuffisante pour les cas graves, où il faut intervenir plus activement; dans ce traitement intensif, il utilisait dès le troisième jour les moelles du sixième jour; au quatrième, les moelles virulentes. C'est actuellement la méthode la plus employée : suivant la gravité des cas, le traitement dure ainsi de quinze à vingt-deux jours.

Les injections vaccinantes sont pratiquées sous la peau des hypocondres; elles sont à peine douloureuses. Souvent elles sont sui-

vies d'érythème local et de démangeaisons, mais d'aucune réaction générale.

Pour se rendre compte de l'efficacité des vaccinations pastoriennes, il suffit de connaître le résultat des vaccinations opérées depuis l'origine du traitement sur des milliers d'individus mordus : les statistiques de l'Institut Pasteur et des autres instituts antirabiques sont éloquentes à cet égard : en effet, la mortalité globale s'élève environ à 1 p. 100, alors que la moyenne des cas non vaccinés donnait une léthalité de 16 p. 100. Mais de cette mortalité globale on peut défalquer les cas où la rage se déclare moins de quinze jours après les dernières inoculations, et où la vaccination n'a pas eu le temps de déterminer des réactions rendant l'organisme réfractaire; dans ces conditions, la mortalité rectifiée s'élève en général à 0,30 p. 100. On voit par ces chiffres les immenses services qu'a rendus la découverte immortelle de Pasteur.

Vaccination par sérum-virus (A. Marie). — A. Marie a modifié le traitement préventif pastorien en additionnant le virus rabique de sérum antirabique; Remlinger a effectué la même technique :

« On broie finement 1 gramme de bulbe de lapin de passage, et on prépare ainsi une émulsion dans 10 centimètres cubes de bouillon faible ou d'eau physiologique : on la passe à travers un linge. A 2 centimètres cubes de cette dilution décimale on ajoute 4 centimètres cubes de sérum antirabique de mouton, et on injecte ce mélange (6 centimètres cubes) sous la peau du ventre, en deux points » (A. Marie).

On répète la même injection les trois jours suivants, puis le malade reçoit les émulsions de moelle désséchée à partir du sixième jour.

Alors que les vaccinations pastoriennes donnent l'immunité après quinze jours de traitement, ce procédé confère une immunité rapide. En effet, Remlinger a montré que 60 centimètres cubes de sérum-virus pouvaient préserver de la rage un mouton, inoculé par injection intra-oculaire trois jours auparavant.

Sérum antirabique. — Babès montra que le sérum des animaux vaccinés contre la rage neutralisait *in vitro* le virus rabique. A. Marie, Remlinger préparèrent un sérum antirabique.

A. Marie inocule dans les veines du mouton une émulsion fine de virus des rues ou de virus fixe (cerveau de lapin). Il répète l'injection trois fois à huit jours d'intervalle; deux semaines après la dernière, il inocule d'emblée le virus fixe sous la peau à doses croissantes. Un mouton reçoit ainsi en huit ou neuf semaines 3 grammes de cerveau rabique.

Alors que le sérum normal de mouton n'a aucune action immunisante, le sérum de mouton vacciné présente des propriétés anti-

rabiques manifestes, puisqu'il neutralise la virulence des émulsions rabiques.

Toutefois, son emploi à titre préventif et curatif n'a pas encore donné les résultats auxquels on pouvait s'attendre.

VIRUS GRIPPAL.

Les recherches bactériologiques suscitées par la pandémie grippale de 1918-1919 auront contribué à faire dénier toute spécificité aux germes qui étaient accusés d'en être les agents déterminants.

Au même titre que le Streptocoque, le Staphylocoque, le Pneumocoque, etc., rencontrés fréquemment dans les humeurs et exsudats des grippés, le bacille de Pfeiffer, dont la spécificité avait cependant rallié le plus de suffrages, fut détrôné de cette qualité, et ne fut plus considéré bientôt que comme un germe d'association secondaire, ou un « microbe de sortie », suivant l'expression de M. Nicolle.

Il résulte des travaux de Ch. Nicolle et Lebailly que le germe pathogène serait un virus filtrant et invisible.

Voici la technique employée par ces auteurs et par ceux qui les ont suivis dans cette voie :

Les crachats des grippés sont recueillis stérilement, puis additionnés d'une certaine quantité d'eau physiologique (10 volumes, par exemple) ; on défibrine, on homogénéise, on agite le tout dans un flacon stérile contenant des billes de verre ; on peut, soit laisser décanter et recueillir le liquide surnageant, soit centrifuger, à la condition de centrifuger à faible vitesse et pendant une minute et demie. Le liquide surnageant est filtré d'abord sur papier, puis sur bougie. Même technique pour le liquide pleural, ou pour le sang. Le sang doit être prélevé le premier ou le second jour de la maladie, et toujours dans des cas très graves. Les crachats peuvent être pris jusqu'au sixième jour.

Les bougies employées sont, suivant les pays, des bougies Chamberland L_2, L_3 ou Berkefeld N.

L'expérimentation sur les petits animaux n'a donné aucun résultat ; chez le *singe* et chez l'*homme*, elle a pu réaliser une affection analogue à l'influenza contractée dans les conditions naturelles. Voici les faits :

Les crachats d'un malade atteint de grippe non compliquée sont filtrés et inoculés à deux sujets de bonne volonté : l'un (vingt-deux ans) en reçoit 4 centimètres cubes sous la peau ; l'autre

(trente ans) en reçoit 6 centimètres cubes dans les veines : le premier tombe malade au sixième jour et présente les symptômes classiques de la grippe : début brusque, céphalée, courbature générale, catarrhe oculo-nasal. Les températures, prises seulement le matin, ont été le premier jour de 39°, le second de 38°, le troisième de 37°,5; deux jours plus tard, le malade est entièrement rétabli.

Les auteurs prirent comme témoin un singe qui reçut en injection sous-conjonctivale et par instillation nasale des crachats non filtrés. Il tomba malade, comme le sujet précédent, le sixième jour après l'inoculation.

Une deuxième expérience effectuée dans les mêmes conditions donna les mêmes résultats.

Les inoculations intraveineuses restèrent sans résultat.

Dujarric de la Rivière fit des expériences analogues et obtint un résultat positif avec le sang de grippé.

Un sujet volontaire reçoit 4 centimètres cubes de sang filtré de quatre grippés très graves (l'un d'eux est mort) ; aucune réaction locale, ni immédiate, ni tardive. Au quatrième jour, après un début assez brusque, céphalée frontale, intense et persistante, douleurs généralisées, mais particulièrement marquées dans les membres inférieurs (tibialgie) et dans les muscles de la nuque; douleurs lombaires peu intenses; asthénie; température autour de 38°, 38°,2. Le cinquième jour, disparition des douleurs ; un certain degré d'asthénie persiste; le septième jour, troubles cardiaques qui ont persisté un certain temps : douleurs précordiales, irrégularités du pouls, essoufflement.

Cunha, Magalhaes, Fonseca, opérant dans l'ignorance complète des expériences des auteurs européens, obtinrent les mêmes résultats.

Deux singes (*Cebus* et *Jacchus penicillatus*) sont inoculés par voie sous-cutanée avec le *sang filtré* de deux malades gravement atteints, tout au début de leur infection : les deux singes présentent une réaction intense et prolongée, avec fièvre élevée; le second meurt au bout de douze jours.

Quatre singes inoculés avec du *filtrat de crachats* de grippés réagissent très fortement; un *Ateles*, inoculé dans le péritoine, est particulièrement atteint avec réaction thermique nette et prolongée.

Yamanouchi, Ivashina et Sakakami obtinrent des résultats semblables, avec le filtrat du sang et des crachats de grippés introduits dans le rhino-pharynx ou sous la peau. Bradford à Etaples, Bowmann et Connor à Abbeville obtinrent chez le singe des résultats identiques par injections sous-conjonctivales de filtrats de crachats.

Tels sont les résultats acquis actuellement; si les expériences n'ont pas permis une identification plus complète du virus grippal,

il semble bien que ce dernier doive rentrer dans la catégorie des virus filtrants.

Ces faits ont d'autre part servi de base à la démonstration expérimentale de l'*immunité grippale*.

Dujarric de la Rivière avait déjà observé qu'un badigeonnage de la gorge, du rhino-pharynx et de la muqueuse nasale du sujet qu'il avait infecté expérimentalement quelque temps auparavant, n'avait provoqué aucun symptôme ; il avait pensé qu'il avait ainsi, lors de la première expérience, acquis l'immunité.

Plus tard, Yamanouchi et ses collaborateurs injectent dans le rhino-pharynx de 12 sujets le filtrat d'une émulsion de crachats ; 6 d'entre eux ayant eu la grippe un ou deux mois auparavant, n'éprouvèrent aucun symptôme ; les 6 autres présentèrent, trois jours après, une atteinte grippale.

Ces faits expérimentaux concordent d'ailleurs avec cette notion nouvellement acquise, qu'une première atteinte de grippe confère généralement une certaine immunité.

FIÈVRE DE TROIS JOURS OU FIÈVRE A PAPPATACIS.

La fièvre dite de « trois jours » sévit dans les climats chauds, tropicaux et subtropicaux. En Europe, son foyer le plus important est l'Herzégovine ; elle est fréquente en Dalmatie, en Italie ; on la signale à Malte, au Caire, en Crète, à Shangaï, aux Philippines.

Reproduction expérimentale de l'infection. — Du sang prélevé le premier jour de l'affection est inoculé, à la dose de 0cc,5, sous la peau de sujets sains ; après une incubation de quelques jours, ces derniers présentent tous les symptômes classiques : frissons, fièvre, prostration avec douleurs vives dans les membres.

Il résulte de telles expériences que la fièvre de trois jours est une infection *transmissible* et sûrement *parasitaire*. Le virus se trouve en circulation dans le sang. L'expérience montre qu'il n'y persiste que durant quarante-huit heures.

Nature du virus. — L'hémoculture ne donne que des résultats négatifs. Dœrr pensa qu'il s'agissait d'un virus invisible.

Dans ce but, il filtra sur bougie Berkefeld du sérum de sujets infectés spontanément, et il inocula sous la peau de deux sujets sains 0cc,14 à l'un et 0cc,28 à l'autre. Six jours après, ils présentèrent tous deux le tableau classique de l'affection.

Par conséquent ce virus invisible traverse les filtres.

Mode de transmission. — Taussig, se basant sur des données épidémiologiques, pensa que la fièvre des trois jours n'était pas con-

tagieuse par contact interhumain direct, mais transmissible d'homme à homme par l'intermédiaire d'un insecte, connu dans les régions où la fièvre sévit : le *Phlebotomus pappataci*.

Dœrr démontra expérimentalement le bien-fondé de cette hypothèse : il recueillit des pappatacis et leur fit piquer des malades au premier jour de l'infection; ces insectes furent envoyés à Vienne, où la fièvre était inconnue; là, des soldats indemnes, de bonne volonté, s'exposèrent aux piqûres de ces pappatacis supposés infectés ; après quatre à six jours d'incubation, ils présentèrent tous les symptômes de l'infection naturelle.

Le *Phlebotomus pappataci* est donc le convoyeur du virus invisible de la fièvre des « trois jours ». Dœrr montra dans la suite que la piqûre de ces insectes ne devenait infectante que huit jours environ après leur contamination par les malades. Il existe là une analogie frappante avec ce que nous connaissons de la fièvre jaune, où le virus doit subir, dans le moustique, une métamorphose avant de pouvoir déterminer l'infection.

VIRUS DE LA DENGUE.

Des expériences faites en 1918, en Australie, où la dengue était apparue, il résulte plusieurs données nouvelles mises en évidence par Burton, Cleland, Burton Bradley et W. Mac Donald.

La dengue peut être transmise expérimentalement d'homme à homme par inoculation sous-cutanée de sang prélevé en période fébrile. Après cinq à neuf jours d'incubation l'infection se déclare, analogue à la dengue contractée dans les conditions naturelles. L'inoculation peut se faire en série; quatre passages ont pu être effectués avec succès.

L'inoculation peut encore être réalisée par des *Stegomyia fasciata* ayant piqué des sujets atteints de dengue. D'ailleurs, en Australie, le champ de l'épidémie s'est trouvé être en parallélisme étroit avec la répartition de ce moustique.

Un certain nombre de ces insectes, capturés au voisinage d'habitations où sévissait la dengue et ayant piqué des malades, ont été transportés dans une région indemne. Ils ont pu communiquer l'infection à quatre personnes sur sept soumises aux expériences de transmission, après quatre à sept jours d'incubation. Leur sang inoculé sous la peau de sujets sains a reproduit l'infection chez ces derniers.

D'après Lasinder et Edw. Francis, *Culex fatigans* jouerait le même rôle.

Le virus, invisible, se trouve donc siéger dans la circulation ; il semble apparaître le deuxième ou troisième jour de la maladie et persister jusqu'au dixième jour ou douzième jour. Le sang conservé dans un endroit frais peut être encore infectieux pendant au moins sept jours.

Traverse-t-il les filtres ?

Sur cinq expériences, une seule a donné un résultat positif. Il semble donc qu'il ait ce pouvoir.

L'expérience montre en outre que le virus existe dans le caillot de coagulation du sang ; des globules rouges lavés légèrement ont donné, en inoculation, un résultat positif sur trois. De nouvelles recherches s'imposent pour achever d'être renseigné sur ces divers points qui semblent n'avoir été qu'effleurés.

Signalons encore qu'une première atteinte confère l'immunité contre une inoculation expérimentale, pratiquée vingt-quatre jours après la guérison.

VIRUS DU TRACHOME.

En 1908, Bertarelli démontrait la filtrabilité du virus du trachome. Le résultat de ses expériences a été confirmé en 1912, par Ch. Nicolle, Blaizot et Cuénod : le produit broyé du curetage des conjonctives est filtré sur une rondelle de terre d'infusoires taillée dans une bougie Berkefeld et cimentée au bout d'un tube de verre, puis injecté au chimpanzé et au magot (*Macacus innuus*) ; on reproduit ainsi chez ces derniers les granulations caractéristiques. Elles apparaissent après huit à dix jours d'incubation au même siège électif que chez l'homme ; elles prennent leur aspect typique vers la troisième ou quatrième semaine, puis régressent pour disparaître vers le troisième mois.

L'infection peut se produire par simple dépôt des larmes sur la conjonctivite excoriée, ou même par simple contact sur une conjonctive indemne ; en ce dernier cas, les lésions sont discrètes ; hyperémie et infiltration au lieu d'élection, sans granulation.

L'affection se transmet par la mouche domestique.

D'après Ch. Nicolle, Blaizot et Cuénod, le trachome expérimental confère l'immunité vis-à-vis d'une réinoculation, à condition que celle-ci soit faite après guérison totale. Les auteurs ont également pu préserver un magot d'une inoculation infectante, en lui injectant préventivement, à plusieurs reprises, du virus trachomateux dans les veines.

De même le trachome subit une amélioration nette à la suite d'injections intraveineuses de virus trachomateux.

Noguchi et Cohen déclarent avoir obtenu des cultures positives en partant du tissu de granulation, et en employant les milieux usités pour la culture des spirochètes. Ils ont obtenu ainsi des formations granuleuses de dimensions et de forme variables, se colorant bien par le Ziehl, le violet de gentiane, mais surtout le Giemsa.

Ces cultures, inoculées à des macaques et des papions, n'ont donné que des résultats négatifs.

VIRUS DE LA VACCINE.

Le virus de la vaccine semble bien appartenir à cette classe des germes invisibles ; c'est ce qui résulte des travaux de Rouget, Remlinger, Carini, Negri.

On recueille sur une génisse de la pulpe vaccinale fraîche; on la broie et on y ajoute dix à douze fois son poids d'eau: on filtre l'émulsion obtenue à travers une bougie Berkefeld V. Le filtrat, inoculé sous la peau d'une génisse saine, à la dose de 40 centimètres cubes, a donné à Rouget 4 résultats positifs sur 10.

Carini, Negri ont montré qu'il était préférable de laisser macérer la pulpe vaccinale broyée dans l'eau stérile; après un séjour de quarante-huit à soixante-douze heures à la glacière, on broie de nouveau, puis on la laisse à la glacière pendant deux semaines. On filtre alors sur coton, puis sur papier, puis à travers la bougie.

Un tampon d'ouate hydrophile imbibé de ce filtrat est mis en contact pendant dix heures avec la cornée scarifiée d'un lapin. Une pustule vaccinale prend naissance; son contenu peut être inoculé avec succès à la génisse (Negri).

Le contact de ce tampon avec la peau rasée d'un lapin donne les mêmes résultats (Remlinger et Osman Nouri).

VIRUS DE LA CLAVELÉE.

La clavelée est une affection contagieuse spécifique atteignant le mouton, et caractérisée par une éruption pustuleuse (claveau), qui siège au niveau de la peau et des diverses muqueuses.

Seuls les pustules et leur contenu sont virulents; c'est par les poussières du claveau desséché que la contagion s'opère le plus généralement. D'après Nocard, le sang n'est jamais virulent.

Nature du virus. — Borrel a démontré que la clavelée était due à un germe traversant la bougie Berkefeld: le produit de raclage d'une pustule mis en suspension dans 100 centimètres cubes d'eau,

puis filtré et inoculé au mouton, lui donne la clavelée. Le virus traverse les pores de la bougie Berkefeld; ceux de la bougie F Chamberland le retiennent.

Immunité. — On peut conférer l'immunité anticlaveleuse par la clavelisation : on vaccine le mouton en provoquant chez lui une atteinte bénigne de clavelée par inoculation de claveau à la face interne de l'oreille ou au niveau de la queue.

On a reconnu que cette vaccination pouvait être dangereuse, car, sur le nombre des moutons clavelisés, certains (1 à 10 p. 100) contractent une clavelée grave et succombent.

Borrel a cherché alors les moyens d'effectuer l'immunisation passive : à des moutons guéris de la clavelée, il inocule à plusieurs reprises le contenu de pustules d'inoculation : il obtient ainsi un sérum qui présente des propriétés préventives et curatives. Son application préserve de la clavelée, mais la durée de l'immunité est minime.

Bridré et Broquet ont utilisé avec succès la vaccination par *virus sensibilisé*; voici leur technique et les résultats obtenus :

La pulpe claveleuse est broyée à l'appareil Latapie. Le produit du broyage, dilué au cinquième dans l'eau physiologique, est passé sur tarlatane. Ce filtrat grossier est centrifugé pendant deux heures et mis en contact avec 3 à 4 volumes de sérum anticlaveleux. On laisse en contact pendant trois jours à la température du laboratoire; on centrifuge, et le culot est dilué dans l'eau physiologique (2 centigrammes par centimètre cube d'eau salée).

Le liquide trouble qui surnage est le vaccin anticlaveleux.

On injecte sous la peau du mouton $0^{cc},25$ de ce vaccin. Vers le cinquième jour, il présente une légère réaction fébrile et une réaction locale, variable suivant l'âge du sujet. En deux ou trois jours, l'œdème a disparu. La lésion vaccinale ainsi provoquée reste close; s'il se forme une croûte superficielle, celle-ci ne se montre en aucune façon virulente.

Cette vaccination confère l'immunité au bout de quarante-huit heures ; celle-ci dure au moins cinq mois. Elle ne comporte aucun danger pour l'animal : les animaux vaccinés peuvent être laissés en contact avec les sujets sains sans danger de contamination pour ces derniers. La méthode peut donc être employée en milieu épidémique.

VIRUS DE LA FIÈVRE APHTEUSE.

Maladie virulente, contagieuse, la fièvre aphteuse sévit particulièrement chez les bovidés, le porc, le mouton, la chèvre : elle est transmissible à l'homme.

Elle est inoculable : un léger frottement sur les muqueuses

effectué avec un objet chargé de liquide des pustules, suffit à déterminer la fièvre aphteuse.

Siège du virus. — La sérosité des aphtes qui se développent sur les muqueuses est virulente; il en est de même de toutes les sécrétions avec lesquelles elle se mélange lors de la rupture des phlyctènes : jetage, salive, etc.

Le lait est virulent ; d'après Ch. Lebailly, la virulence se montrerait même avant l'apparition des aphtes.

Nature du virus. — On a décrit des microcoques divers comme agents pathogènes de la fièvre aphteuse. Il s'agissait sans doute d'impuretés des téguments.

Löffler et Frosch ont montré que le microscope et les cultures ne peuvent déceler aucun germe dans le liquide séreux des pustules, et cependant ce dernier inoculé confère la fièvre aphteuse; ils ont apporté la preuve la plus évidente de l'existence, dans ces pustules, d'un germe invisible, traversant les filtres:

A 1 partie de sérosité aphteuse on ajoute 39 parties d'eau stérile; on filtre le mélange sur bougie Berkefeld : 1 centimètre cube de filtrat est injecté dans les veines d'un veau; celui-ci contracte une fièvre aphteuse typique. Le résultat est identique quand on fait passer le filtrat à travers deux ou trois bougies successives. Le virus est arrêté au contraire par le filtre de Kitasato et la bougie B Chamberland.

La lymphe des pustules, conservée en tubes scellés, est encore virulente après le quatorzième jour; filtrée et conservée à la glacière, elle conserve ses propriétés pendant trois à quatre mois.

La dessiccation lui fait perdre son activité en vingt-quatre heures à la lumière du jour. Un chauffage de 50° pendant un quart d'heure, à 70° pendant dix minutes, tue fatalement le virus.

Il résiste fort peu à l'action des antiseptiques.

Immunisation. — Par l'inoculation intraveineuse de 1 centième à 1 dixième de centimètre cube de lymphe chauffée à 37°,5 pendant douze heures, Löffler et Frosch ont obtenu l'immunité dans 30 à 50 p. 100 des cas.

Siegel a montré que le sérum d'animal atteint de fièvre aphteuse, recueilli lors de l'éruption pustuleuse, possède des propriétés préventives. Injecté à des sujets sains, ce sérum empêche les effets d'une injection virulente ultérieure.

Löffler et Frosch, en pratiquant des injections intraveineuses répétées de lymphe virulente, ont obtenu un sérum qui serait doué de propriétés préventives. Ils l'ont utilisé pour la vaccination en mélange avec du virus (séro-vaccination par la *séraphtine*),

à la dose de 10 à 20 centimètres cubes. Ce procédé est irrégulier dans ses effets, voire même dangereux, car un certain nombre d'animaux ainsi traités contractent la fièvre aphteuse.

Des essais de vaccination passive ont été tentés à l'aide du sérum seul; Löffler et Uhlenhuth estiment que, si elle est impraticable chez le bœuf, elle peut être utile chez le mouton et le porc.

D'après Ch. Lebailly le sérum ou le sang citraté d'animaux guéris est préventif pendant vingt-cinq jours; il serait également curatif; si l'on intervient au début des aphtes, il atténuerait les symptômes.

VIRUS DU HOG-CHOLÉRA.

Le hog-choléra sévit surtout sur les jeunes porcs. Cette infection se traduit principalement par des symptômes pulmonaires et intestinaux. L'autopsie montre, au niveau de l'intestin grêle, de la congestion, puis des ulcérations des plaques de Peyer, avec hypertrophie des ganglions mésentériques. Au niveau des poumons, on perçoit des noyaux de bronchopneumonie, et même de petits infarctus hémorragiques.

Nature du germe spécifique. — Il y a quelques années seulement, le hog-choléra était considéré comme relevant de l'action pathogène d'un Bacille analogue au paratyphique B décrit par Salmon. Toutefois les travaux effectués en Amérique par Dorset, Schweinitz, Morton, Mac Clintock, Boxmeyer et Siffer, puis en France par Carré, Leclainche et Vallée, etc., arrivèrent à une conclusion inattendue : ces auteurs démontrèrent en effet que le virus spécifique était un organisme filtrant : le Bacille décrit antérieurement ne serait qu'un germe saprophyte.

Quand on inocule à des pourcelets sains du sang ou des pulpes d'organes broyés, recueillis sur le cadavre de porcs ayant succombé au hog-choléra, on détermine chez les premiers l'infection caractéristique. Le sang du porc inoculé présente des propriétés virulentes, et cependant le Bacille de Salmon ne s'y trouve pas encore.

On dilue dans 10 volumes d'eau le sérum ou le sang complet d'un porc infecté; on filtre sur bougie Berkefeld V ou sur bougie B ou F Chamberland. On obtient un filtrat incultivable, où aucun germe n'est décelable. Cependant, si on en inocule 20 à 30 centimètres cubes sous la peau des porcs jeunes, le hog-choléra se déclare chez eux avec tous les caractères de l'infection naturelle.

D'après ces faits, le Bacille de Salmon serait complètement étranger au hog-choléra.

VIRUS DE L'AGALAXIE CONTAGIEUSE DE LA BREBIS ET DE LA CHÈVRE.

Il résulte des recherches entreprises par une foule d'auteurs, mais plus spécialement par Celli et de Blasi, en Italie, Carré, en France, que l'agalaxie est contagieuse par l'intermédiaire du lait qui présente des altérations caractéristiques.

Celli et de Blasi ont établi que le virus était invisible et traversait les filtres.

Avec le lait filtré sur Berkefeld on peut reproduire l'agalaxie par inoculations dans le tissu mammaire ou le sinus galactophore, de même aussi dans la cornée ; la lésion oculaire peut être produite à la suite d'injections sous-cutanées, ou cornéennes ; l'arthrite par injection intraarticulaire ; enfin tout le cadre de l'affection peut être réalisé par l'inoculation sous-cutanée ou intraveineuse, oculaire ou endoarticulaire.

Ce virus est labile : à 15° dans l'obscurité, il s'atténue en moins de deux mois.

Rocco Marra et N. Cocciante ont montré que le virus siégeait dans le sang au moment de l'élévation thermique.

Dans les conditions naturelles, les animaux se contaminent en absorbant le virus par les voies digestives. L'expérimentation confirme cette donnée, comme elle démontre aussi la possibilité de la transmission par la traite ; il suffit en effet de déposer le virus à l'entrée d'un trayon pour infecter une chèvre ou une brebis.

Carré a réussi à provoquer une véritable culture *in vivo*, en provoquant chez l'animal la production d'un exsudat pleural abondant, à la suite d'injection intrapleurale de gluten-caséine et de virus. On obtient ainsi 2 litres à 2 litres 1/2 de sérosité virulente.

Une première atteinte donne l'immunité. Celle-ci, chez les animaux guéris, peut être renforcée par l'injection de cette sérosité plus riche que les filtrats. Le sérum des animaux ainsi hyperimmunisés est préventif ; 10 centimètres cubes suffisent pour protéger contre l'action nocive de plusieurs repas infectants.

Enfin, l'injection sous-cutanée de virus et du sérum vaccine les brebis et les chèvres contre l'infection expérimentale.

« BACTERIOPHAGUM INTESTINALE ».

Ce germe ultramicroscopique, découvert en 1917 par d'Hérelle dans l'intestin des dysentériques, se différencie nettement des précédents. C'est un parasite intestinal, invisible, qui manifeste sa virulence, non pour l'homme ou les animaux, mais pour plusieurs microbes pathogènes aux dépens desquels il se développe et qu'il détruit. Il intervient donc dans la défense du tube digestif.

On peut facilement le mettre en évidence au cours de certaines infections intestinales et surtout sur le déclin de la dysenterie bacillaire.

On ensemence II à III gouttes de selles diarrhéiques d'un dysen-

térique convalescent dans 20 centimètres cubes de bouillon; après dix-sept heures à l'étuve à 37°, on filtre sur bougie Chamberland L_2; on obtient un filtrat privé de bactéries visibles, mais qui contient le *Bacteriophagum intestinale*. Il suffit en effet d'ajouter une trace de ce filtrat à une culture en bouillon de bacilles de Shiga, pour que ce germe Shiga soit tué, puis lysé dans un laps de temps variant de quelques heures à quelques jours, si bien que le bouillon redevient absolument clair. Ce milieu devenu clair représente une culture de *Bacteriophagum intestinale*, développée aux dépens du bacille de Shiga.

Alors que le bacille de Shiga succombe à l'action d'un chauffage à 56° pendant une heure, ce germe invisible résiste à un chauffage à 65° pendant le même temps.

Ce germe bactériophage est indéfiniment repiquable à condition d'être repiqué chaque fois dans une culture de bacille de Shiga. L'extrémité d'un fil de platine trempée dans la culture de *Bacteriophagum intestinale*, soit un millième de centimètre cube, suffit à des centaines et sans doute à des milliers de repiquages successifs.

On peut encore le mettre en évidence, peut-être mieux, en utilisant une culture jeune sur *gélose ordinaire*. D'Hérelle se sert plus volontiers de ce procédé quand, au sortir de l'étuve, le filtrat, au lieu d'être clair, est encore un peu louche.

On en prélève alors une goutte que l'on étale à la surface d'un tube de gélose inclinée, porté à l'étuve à 37° pendant vingt-quatre heures.

Si le *Bact. intestinale* est absent des selles, on obtient une culture normale de bacille de Shiga: la gélose est uniformément recouverte de la couche continue habituelle de culture.

S'il est présent, mais peu virulent, la couche de bacilles de Shiga présente une ou plusieurs taches vésiculaires où la gélose est à nu, sans culture; on observe en réalité des trous dans la culture, correspondant au développement d'une colonie de *Bacteriophagum intestinale* qui se montre ainsi en « négatif ».

C'est surtout dans les dysenteries bacillaires graves au début de leur amélioration, ou dans les cas très légers, que l'on trouve le plus facilement le *Bacteriophagum intestinale*. Dans les dysenteries prolongées, il n'a qu'une action nulle ou très faible, qui devient brusquement forte au moment où survient une amélioration. Le pouvoir bactériophage disparaît brusquement des selles au moment de la convalescence, quand le bacille de Shiga disparaît lui-même.

Cette action bactériophage n'existe pas seulement pour le bacille de Shiga; elle peut arriver à s'exercer vis-à-vis des bacilles de

Flexner et de Hiss en le cultivant en symbiose avec ces derniers.

D'Hérelle a encore observé ses effets dans la *fièvre typhoïde*, au moment où les symptômes subissent une amélioration définitive. L'apparition de sa virulence pour le bacille d'Eberth est généralement précédée d'une exaltation de celle-ci pour le colibacille.

De plus la virulence s'exerce également vis-à-vis des bacilles paratyphiques.

Enfin, d'Hérelle a vu la virulence du *Bacteriophagum intestinale* se manifester sur *Bacillus sanguinarum* de Moore, agent pathogène de la *typhose aviaire*.

La typhose aviaire donne chez les poules une mortalité considérable; dans les cas mortels, le *Bact. intestinale* est absent. Quand, exceptionnellement, elles guérissent, la guérison s'annonce par l'apparition, dans les matières fécales, d'un pouvoir bactériophage très marqué pour le germe pathogène.

Chose curieuse: quand une poule gravement atteinte guérit, l'épizootie s'arrête brusquement dans la basse-cour ; d'Hérelle admet alors que le bactériophage s'est transmis à toutes les poules, de sorte que l'immunité serait contagieuse au même titre que l'infection elle-même.

D'après d'Hérelle, ce germe existerait également en dehors de toute infection intestinale, chez tout individu normal, par conséquent. J. Dumas l'a mis en évidence dans la terre et dans l'eau.

D'Hérelle s'est demandé, en outre, si ces phénomènes de bactériophagie étaient tributaires d'un microbe bactériophage unique, susceptible d'acquérir par accoutumance la faculté de se développer aux dépens de telle ou telle bactérie, ou s'il existait des espèces distinctes de ce germe, chacune d'elles étant douée électivement d'un pouvoir bactéricide vis-à-vis d'une bactérie déterminée. Or, il a constaté qu'un bactériophage isolé des déjections d'un convalescent de dysenterie conservait une action bactéricide pour le bacille d'Eberth après de nombreux passages, au cours desquels il s'était développé uniquement aux dépens du Shiga. Toutefois il déclare n'avoir jamais isolé deux souches semblables de ce germe ; les unes sont douées de ce pouvoir sur plusieurs bacilles, dysentériques, typhique, paratyphiques, colibacille, mais à des degrés différents d'intensité ; d'autres n'attaquent qu'une espèce bactérienne, d'autres en attaquent deux; toutes les combinaisons sont donc possibles.

Il est à remarquer, par ailleurs, que ce germe ne détruit que les bacilles vivants; il ne s'attaque pas aux bacilles morts, si bien

qu'une culture datant de plusieurs jours, où un certain nombre de bacilles de Shiga a succombé, ne s'éclaircit pas complètement.

D'autre part, si le virus bactériophage est de faible virulence, il est insuffisant pour lyser tous les germes d'une culture ; il en respecte un certain nombre ; le liquide qui s'était éclairci sous l'influence de la lyse se trouble à nouveau légèrement à la suite de la multiplication des bacilles restés intacts. Ces derniers présentent des formes d'involution et sont inagglutinables par le sérum spécifique. Mais, après repiquage ils donnent des germes normalement agglutinables et se laissant facilement bactériophager.

T. Kabeshima interprète autrement ce qu'il nomme le « phénomène de d'Hérelle ». Pour lui il ne s'agit pas d'un agent figuré, mais d'un *ferment spécial*, d'un catalyseur. Le fait qu'une quantité très minime du produit suffit à dissoudre une grande quantité de bacilles (phénomènes de digestion sans doute), puis cet autre qu'il résiste à une température de 70° pendant une heure, de même aussi à l'action de l'acétone, de l'éther, du fluorure sodique, substances notoirement antiseptiques, semblent devoir militer en faveur de sa conception.

Pour J. Bordet, le phénomène résulterait d'une défense de l'organisme et notamment d'une activité particulière des exsudats leucocytaires.

D'après les recherches de Salimbeni, le « bactériophage » est un myxomycète qu'il a pu isoler et cultiver.

AUTRES VIRUS ULTRAMICROSCOPIQUES.

Virus de la peste bovine. — La peste bovine est une maladie infectieuse inoculable, se manifestant par un état typhoïde grave. Elle sévit sous forme épidémique, atteignant de préférence les bovidés.

Le sang, la lymphe, toutes les sécrétions normales et pathologiques sont virulents ; leur inoculation à un animal sain reproduit sûrement l'affection. Le mouton n'est insensible qu'en apparence ; l'expérience montre que, sans réagir à l'inoculation, il conserve le virus ; une émulsion de ses organes injectée à un bovidé reproduit l'infection chez ce dernier.

Nicolle et Adil-bey ont montré que le virus spécifique était invisible et incultivable ; le liquide virulent, dilué préalablement et filtré à travers une bougie Berkefeld, détermine l'infection après inoculation. D'après Schein, le virus siège dans les éléments figurés du sang.

Des essais de séro-vaccination ont été tentés récemment ; les résultats ne paraissent pas encore définitifs.

Virus de la peste des oiseaux. — Maladie infectieuse, inoculable, sévissant chez les poules, étudiée en Italie par Centanni, Maggiora et Valenti, retrouvée ensuite dans le Tyrol et en Belgique. Les animaux présentent de l'inappétence, de la somnolence ; ils se tiennent, les plumes hérissées,

dans un coin de leur cage : la crête devient violacée; la température s'abaisse à 30°; ils succombent entre le troisième et le huitième jour.

Le sang et les organes sont virulents ; il suffit de piquer une poule saine avec une aiguille trempée dans le sang de poule malade pour qu'elle contracte l'infection et meure en trente à trente-six heures.

Le lapin est réfractaire, ce qui différencie nettement cette infection d'avec le choléra des poules, avec lequel la peste des oiseaux semble présenter beaucoup d'analogie.

Le microscope et les cultures sont incapables de déceler le virus. Le sang et la pulpe d'organes, dilués puis filtrés sur bougies Berkefeld et Chamberland F, sont virulents.

On peut vacciner la poule en lui injectant dans les muscles 10 centimètres cubes de virus resté trois jours à l'étuve à 46-47° (Jouan et Staub). Le sérum de cet animal ainsi vacciné est préventif : inoculé vingt-quatre heures avant le virus, il protège la poule.

Virus de la maladie des chiens. — Carré a démontré que le filtrat du jetage des chiens atteints de la « maladie des chiens » injecté à des jeunes chiens, pouvait reproduire chez eux l'infection.

Virus de l'anémie pernicieuse du cheval. — D'après Carré et Vallée, le sang des chevaux atteints de cette affection contient un virus invisible qui traverse les bougies Berkefeld V et Chamberland F et B. Le sérum provenant d'un cheval malade additionné de 4 parties d'eau physiologique et filtré, injecté, à la dose de 500 centimètres cubes de ce mélange, dans la veine d'un cheval sain, reproduit une anémie rapide se traduisant par les mêmes symptômes que l'affection contractée dans les conditions naturelles. L'expérience réussit mieux quand on filtre sur une bougie spéciale, plus poreuse que les précédentes,

Virus du horse sickness. — Infection sévissant en Afrique du Sud sur les chevaux qui passent la nuit en plein air, alors que ceux qui sont abrités dans une écurie bien close restent indemnes. C'est d'ailleurs ce qui a fait supposer qu'elle était transmissible par des insectes piqueurs. Elle est inoculable; le virus est contenu dans le sang et la sérosité qui se développe dans le tissu cellulaire sous-cutané de la tête et de l'encolure.

Aucune forme microbienne n'y est perceptible, mais ces humeurs, diluées dans trois fois leur volume d'eau, sont encore virulentes après filtration sur bougie Berkefeld; d'après Nocard, le filtre Chamberland arrête au passage le germe supposé. Mac Fadyean a observé cependant la virulence de ces produits après filtration sur bougie F Chamberland.

CHAPITRE LXXIX

ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES APPLIQUÉES A LA CLINIQUE

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DES EXSUDATS DES PLAIES.

La plupart des plaies accidentelles renferment des espèces microbiennes.

Le type le mieux étudié des plaies accidentelles est représenté actuellement par les *plaies de guerre*. Des recherches multiples (Wright, Policard et Phélip, etc.) ont établi que presque toutes sont contaminées d'emblée par une ou plusieurs espèces microbiennes. Les recherches de l'un de nous ont montré que sur 233 plaies des membres, 228 étaient *contaminées d'emblée*, 5 seulement étaient stériles. Les germes les plus fréquents sont : parmi les aérobies, le Staphylocoque (85 p. 100 des cas), le Streptocoque (12 p. 100), l'Entérocoque (40 p. 100), le Tétragène (14 p. 100), le Bacille pseudo-diphtérique (21 p. 100), le *Proteus* (8 p. 100), le Bacille pyocyanique (5 p. 100), le *Bac. anthracoïdes* (11 p. 100) ; et parmi les anaérobies : le *Bac. perfringens* (68 p. 100), le *Bac. sporogenes* (22 p. 100), le *Bac. putrificus* (7 p. 100), le Vibrion septique (3 p. 100), le *Bac. bellonensis* (4 p. 100). A partir des premières heures qui suivent la blessure, les germes pullulent plus ou moins, et dans la plupart des cas l'*infection* se réalise. Cette dernière peut être l'œuvre de germes multiples. Parmi les germes aérobies, les espèces infectantes les plus fréquentes sont le Streptocoque (Wright, Tissier), le Staphylocoque, le *Proteus* (Sacquépée, de Lavergne et Dehorne). Les germes anaérobies développent des processus de *gangrène gazeuse*, étudiée antérieurement dans un autre chapitre.

L'analyse bactériologique de l'exsudat des plaies peut être faite par examen direct après coloration, ou par mise en culture. On a proposé en outre quelques procédés d'étude biologique.

Examen direct. Numération. — Pour pratiquer l'examen direct, prélever un peu d'exsudat de la plaie ; étaler sur lame, de manière uniforme, sur une épaisseur moyenne ; fixer et colorer comme d'or-

dinaire. Il est bon de préparer deux lames, qui seront traitées, l'une par coloration simple, l'autre par la méthode de Gram.

L'examen direct, ainsi pratiqué, permet tout d'abord de déceler tout au moins une espèce, le Streptocoque, dont les longues chaînettes, Gram-positives, sont caractéristiques.

Il permet en outre d'étudier la formule histologique, parfois intéressante. La présence d'une quantité appréciable de mononucléaires indique en effet une tendance à la guérison (Policard).

Enfin, l'examen direct suffit pour opérer la *numération directe* des germes. Ce procédé d'appréciation, employé surtout depuis Carrel et ses collaborateurs, peut rendre service dans l'appréciation de l'évolution des plaies. Il exige naturellement de la part de l'opérateur une technique à peu près uniforme, afin d'éviter des erreurs grossières d'estimation ; et d'autre part, les chiffres obtenus par divers observateurs sont difficilement comparables entre eux. Cette méthode d'appréciation est certes très imparfaite, mais il est incontestable qu'elle rend de grands services. En pratique, on se contente d'énoncer le nombre de germes visibles par champ microscopique. On examine la préparation en la faisant mouvoir largement sur la platine du microscope, de manière à ce que l'examen porte sur des points variés ; on compte le nombre de germes dans chaque champ examiné; on établit ensuite la moyenne. L'un de nous a calculé qu'avec les systèmes optiques habituellement employés, la présence d'un microbe par champ correspond à 600 microbes environ par millimètre cube d'exsudat.

Mise en culture. — On peut employer soit des méthodes d'usage courant, soit des méthodes spéciales, ces dernières réservées à la recherche d'espèces déterminées.

Méthodes d'usage courant. — Les procédés usuellement employés pour l'isolement direct sont les ensemencements, aérobies ou anaérobies. Les uns et les autres sont pratiqués suivant les techniques habituelles, qu'il est inutile d'exposer en détail, mais au sujet desquelles certaines remarques semblent néanmoins utiles.

En ce qui concerne les *aérobies*, le mieux est d'ensemencer l'exsudat en large surface (boîte de Petri ou fiole de Pinoy), de manière à ce qu'on puisse obtenir des colonies parfaitement séparées et en même temps suffisamment nombreuses pour ne rien laisser échapper d'important. Examiner et repiquer après vingt-quatre, puis quarante-huit heures.

La culture directe des *anaérobies* sera faite de même en tubes de gélose glucosée profonde (formule Veillon). Examiner tous les jours. Isoler en temps opportun. Plusieurs tubes sont toujours nécessaires.

Ces méthodes d'ensemencement direct présentent un très gros intérêt, en permettant d'identifier les espèces et de connaître la fréquence relative de chacune d'elles. Elles constituent la base essentielle de l'étude des plaies.

Isolement par des méthodes spéciales. — Mais il peut être utile parfois — il le sera sans doute davantage dans l'avenir — de chercher à dépister la présence de certaines espèces déterminées, plus dangereuses que d'autres en raison de leur aptitude à développer les infections, sans que pour cela leur nombre soit toujours en rapport avec leur importance éventuelle; c'est le cas du Streptocoque, du Vibrion septique, du *Bacillus bellonensis*, et sans doute de quelques autres espèces encore. Il faut alors avoir recours à des procédés susceptibles de déceler la présence d'unités clairsemées qui échappent ordinairement aux isolements directs.

C'est là tout un chapitre spécial, pour lequel il suffira de donner quelques indications relatives d'une part au Streptocoque, d'autre part aux anaérobies pathogènes.

Recherche du Streptocoque. — Il est souvent important, non seulement de reconnaître si le Streptocoque est présent, mais encore d'obtenir ce renseignement le plus tôt possible.

Dans ce but, on ensemencera l'exsudat dans un milieu franchement électif : bouillon-sérum, bouillon-ascite, bouillon-blanc d'œuf alcalin, bouillon au sang, etc. Mettre à l'étuve ; pratiquer des examens microscopiques à partir de la cinquième heure ; si l'examen ne montre pas de chaînettes, laisser le tube à l'étuve et examiner à nouveau un peu plus tard.

Lorsque l'examen est positif, et s'il y a intérêt à cela, on isolera le Streptocoque par ensemencements en surface sur gélose, suivant les techniques habituelles.

Recherche des anaérobies pathogènes. — Pour cette recherche, généralement assez délicate, on emploiera les procédés suivants :

1° *Isolement des formes sporulées.* — S'il existe des spores, émulsionner le produit, chauffer (quinze minutes à 80° par exemple), ensemencer directement. Procédé qui donne assez souvent dans les tissus gangréneux le *Bac. bellonensis*, le *Bac. sporogenes*, etc.

2° *Sporulation intramusculaire.* — Prélever un fragment d'environ 1 centimètre cube du muscle altéré; porter en bouillon ordinaire (tube profond, 12 centimètres de hauteur) à 37°; examiner le cube musculaire (et non le liquide) après vingt-quatre heures. S'il existe des spores, faire une émulsion du muscle, chauffer, ensemencer en milieu de Veillon. On peut obtenir ainsi le *Bac. bello-*

nensis, parfois le Vibrion septique, souvent le *Bac. sporogenes* ou le *Bac. putrificus*.

3° *Retour aux conditions initiales.* — Prélever un cube musculaire, couvrir d'un peu d'eau physiologique ; laisser vieillir, soit à l'étuve, soit à la température ambiante. Après quelques jours à l'étuve ou quelques semaines à la température ambiante (temps variable suivant les échantillons), la flore est ramenée à peu près à ce qu'elle devait être le plus souvent quand la plaie a été contaminée: comme dans la terre qui a infecté, les anaérobies sont revenus à l'état sporulé, les aérobies résistants persistent avec une vitalité amoindrie. Faire macérer, inoculer à l'animal le liquide de macération. Si l'inoculation développe une lésion gangréneuse, sacrifier l'animal quand la lésion est bien nette ; isoler les espèces présentes par les procédés habituels (ensemencement en gélose profonde). Ce procédé donne souvent soit le Vibrion septique, soit le *Bac. bellonensis*.

Procédés d'étude biologique. — Divers procédés ont été préconisés dans le but de déterminer la réaction de l'organisme infecté par rapport aux microbes infectants. Nous citerons la pyoculture et la pyosérоculture.

Pyoculture (Delbet). — L'exsudat, prélevé dans une pipette, est divisé en deux parties. Une partie est ensemencée en bouillon ; l'autre partie est mise à l'étuve telle quelle. On examine ensuite les deux ensemencements (examen direct après coloration).

La pyoculture est *négative* quand les microbes sont bactériolysés dans le pus mis à l'étuve. Elle indique que le blessé triomphe de l'infection.

La pyoculture *positive* (culture abondante dans le pus, plus abondante que dans le bouillon) indique un pronostic très grave.

La pyoculture *nulle* (pas de culture dans le pus, culture dans le bouillon) témoigne d'une lutte active.

Pyséroculture (Wright). — Wright a montré que certains microbes des plaies, Staphylocoque et Streptocoque, trouvent dans le sérum un milieu de culture favorable : ce sont les *sérophytes* ; d'autres, comme le *B. perfringens*, le *Proteus*, le bacille pyocyanique, ne se développent dans le sérum que s'ils sont ensemencés en masse : ce sont les *sérophytes imparfaits*.

Pour apprécier l'action du sérum du blessé sur les microbes de la blessure, Wright utilise le procédé suivant. Dans une pipette spéciale (pipette pour étude des opsonines, Voy. p. 79), on aspire l'exsudat jusqu'au trait marqué ; on le rejette ensuite. Puis on aspire une quantité égale de sérum du blessé, puis une bulle d'air ; à nouveau une unité de sérum et ainsi de suite, jusqu'à huit ou neuf gouttes de sérum. On obtient ainsi un chapelet de gouttes de sérum, séparées par des bulles d'air. Et chaque goutte, à partir de la première, se trouve additionnée d'une semence de moins en moins riche. La pipette est ensuite mise à l'étuve. On répète la même expérience avec une autre pipette, en utilisant d'une part le même exsudat, d'autre part le sérum d'un sujet normal.

Après six à douze heures, chaque goutte est projetée sur une lame

stérile, puis ensemencée en stries sur boîtes de gélose, qu'on met à l'étuve. On examine après vingt-quatre heures.

Si le blessé est en voie d'immunisation, les deux groupes de cultures (provenant des deux pipettes) ne contiennent que des sérophytes, et ces derniers sont moins abondants dans les cultures de la première pipette (sérum du blessé) que dans les cultures de la seconde (sérum normal).

Si au contraire le blessé n'est pas en voie de réaction curative, les cultures obtenues sur son sérum renferment des sérophytes imparfaits, qui n'existent pas dans les cultures sur sérum normal.

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DU PUS.

Nous étudions dans ce chapitre le pus, d'une façon générale. Dans nombre de cas, spécialement pour l'étude du pus des plaies, les indications données dans l'article précédent demeurent toujours valables.

Le pus, au point de vue pratique, doit être considéré comme étant toujours d'origine microbienne.

Il est impossible d'énumérer ici tous les microbes susceptibles de provoquer la suppuration ; cette propriété est probablement commune à tous les microbes pathogènes sans exception. Toutefois, il est un certain nombre de microbes qu'on rencontre plus communément dans telle ou telle circonstance :

Dans les *suppurations aiguës* habituelles : *Staphylocoque*, *Streptocoque*, *Proteus* ; moins souvent, *Tétragène*, *Pneumocoque*, *Entérocoque* ; ou bien *Gonocoque*, *Méningocoque*, *Bacille pesteux*, *Bacille typhique*, *Amibe dysentérique*, etc.

Dans les *suppurations fétides*, on rencontre d'ordinaire des microbes anaérobies : *Bacillus perfringens*, etc.

Les *suppurations subaiguës* ou *chroniques* sont plutôt l'apanage du *Bacille tuberculeux*, de l'*actinomycose*, des *sporotrichoses*.

Tout au moins dans les processus subaigus ou chroniques, la présence d'une bactérie habituellement pyogène ne s'oppose pas à la présence simultanée du Bacille tuberculeux ; en pareil cas, la constatation de cette bactérie pyogène ne dispense donc pas de chercher le Bacille de Koch.

Prélèvement. — Voy. chap. XIII.

Opérations complémentaires. — A. Expédition. — Envoyer au laboratoire la pipette qui a servi au prélèvement, après avoir étiré le verre et scellé les deux extrémités.

Ou bien envoyer la seringue remplie de son contenu.

Ou bien verser le contenu de la pipette ou de la seringue dans un tube stérile.

A défaut de tube stérile fourni par le laboratoire, on peut utiliser une ampoule usagée de médicaments : chaque praticien en possède. La laver soigneusement à l'eau, sécher rapidement et flamber dans la flamme d'une lampe à alcool pour la stériliser. Sceller une extrémité et introduire, par celle qui est encore ouverte, la pointe de la pipette ou de l'aiguille qui ont servi à opérer le prélèvement; pousser dans l'intérieur de l'ampoule le contenu de l'une ou de l'autre.

Placer ensuite le tube dans un étui métallique bourré de coton ; disposer cet étui dans une caisse de bois garnie de coton ou de sciure.

Expédier enfin au laboratoire par les voies les plus rapides.

B. Renseignements. — Toute demande d'analyse de pus (ou de tout autre produit) sera accompagnée d'une note, faisant connaître au bactériologiste les renseignements utiles pour la conduite de l'expertise et pour l'appréciation des résultats : observation résumée, localisation des lésions, état général du malade, aspect du pus, hypothèse vraisemblable sur sa nature ; est-il ou n'est-il pas indiqué de rechercher le Bacille tuberculeux? etc.

C. Quand on a l'impression que le pus n'a pas été recueilli d'une manière aseptique et que cela peut fausser l'examen, il faut bien spécifier dans l'énoncé des résultats qu'il y a lieu de faire des réserves sur les indications données par l'expertise.

D. On n'oubliera jamais de stériliser, après l'expertise, ce qui reste des produits envoyés.

Expertise bactériologique. — Examen microscopique direct. — L'examen direct à l'état frais est habituellement inutile. Il n'est indispensable que dans le cas d'abcès hépatique, quand on veut rechercher les amibes dysentériques.

Dans tous les autres cas, c'est l'examen *après coloration* qui s'impose.

Confection des frottis. — Déposer sur une ou, de préférence, plusieurs lames, une goutte de pus, et l'étaler sur la lame. Fréquemment on se contente, dans ce but, de déposer simplement une lamelle sur la goutte, et on l'envoie ainsi au laboratoire. Il n'est pas de pratique plus défectueuse, car les préparations effectuées ultérieurement sont détestables : en effet, pendant le trajet, les bords se dessèchent et, entre lame et lamelle, les éléments du pus s'altèrent; il en est de même de certains germes qu'il contient. De plus, la lamelle une fois soulevée et retirée, tout étalement correct devient impossible.

Il est infiniment préférable de pratiquer sur place cet étalement de la façon suivante : sans trop appuyer, et *avec le moins de trau-*

matisme possible, pour éviter de déformer les cellules pyoïdes et de modifier les rapports que présentent les microbes avec ces dernières (surtout s'il s'agit de pus blennorragique), on promène sur la lame une lamelle ou une lame, ou une carte de visite. L'étalement doit être *mince* et *uniforme*. Faute de cette précaution, on peut compromettre les résultats de l'expertise.

Si le pus présente des grains jaunes faisant penser à l'actinomycose, prélever un grain et l'écraser entre deux lames.

Fixer légèrement à la flamme et colorer.

Coloration. — Pour la coloration, utiliser au moins deux lames.

On traitera la première par une *coloration simple* (violet de gentiane, fuchsine diluée, thionine phéniquée) qui permet de se rendre compte de la présence de microbes, de leur forme, de leur mode de groupement, de leurs rapports avec les cellules du pus (situation intra ou extracellulaire). Noter en même temps les caractères et la qualité des éléments histologiques (poly ou mononucléaires).

On traitera la seconde par la *méthode de Gram*, avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée, pour déterminer nettement si le ou les germes observés prennent ou non le Gram, caractères indispensables pour orienter les recherches d'identification.

Examen. — L'examen après coloration donne des renseignements précieux.

Il permet tout d'abord de se rendre compte du nombre approximatif des microbes présents, et de leurs rapports avec les éléments cellulaires.

Dans nombre de cas, il peut être suffisant pour déterminer la nature de quelques espèces microbiennes : il en est ainsi lorsqu'on rencontre les chaînettes longues de *Streptocoque*, les formes spéciales de l'*actinomycose* ou de la *sporotrichose*, ou, dans le pus urétral, les diplocoques intracellulaires Gram-négatifs du *Gonocoque*.

Mais le plus souvent, les renseignements fournis par l'examen direct sont insuffisants, parce que les formes microbiennes observées ne sont pas caractéristiques d'une espèce déterminée, ou parce qu'il existe des formes microbiennes appartenant manifestement à plusieurs espèces différentes, qu'il est nécessaire d'isoler.

Dans ces différents cas, il faut avoir recours aux cultures.

Mise en culture. — Les milieux à employer diffèrent suivant les constatations de l'examen direct :

Si le germe observé est supposé être du Staphylocoque, Bacille d'Eberth, Colibacille, *Proteus*, Pyocyanique, utiliser les milieux ordinaires et de préférence les mieux solides, qui permettent d'obtenir des colonies isolées ; on ensemencera donc sur plusieurs tubes de

gélose ordinaire, en ayant soin, pour obtenir l'isolement, d'ensemencer successivement tous les tubes avec la même anse, sans recharger. On peut encore couler le milieu en boîtes de Petri et, après refroidissement, ensemencer en stries.

Si l'on soupçonne la présence du Méningocoque, du Gonocoque, du Bacille de Ducrey, employer la gélose-ascite (gélose à 3 p. 100, 3 parties; liquide d'ascite stérile, 1 partie), la gélose au sang ou pour le Méningocoque, la gélose à l'œuf alcalin.

En cas de sporotrichose, ensemencer sur gélose sucrée de Sabouraud, et laisser à la température du laboratoire.

En cas d'actinomycose, ensemencer sur gélose glycérinée ou sur pomme de terre.

Si l'on suppose l'existence de microbes anaérobies, ensemencer en gélose de Veillon ou en tubes de Vignal suivant la technique habituelle.

Examen des colonies. — La culture ayant poussé, il faut examiner les colonies apparues : on note leurs caractères macroscopiques, à l'œil nu et à la loupe, puis leurs caractères microscopiques; on réensemence enfin les colonies isolées sur les divers milieux de culture appropriés, et on procède à l'identification définitive.

Inoculations. — Dans la pratique courante, l'inoculation à l'animal n'est nécessaire que dans les cas où l'on soupçonne la nature tuberculeuse du pus, ou l'existence du Pneumocoque, du Pneumobacille, du Bacille pesteux, du Bacille morveux.

En cas de tuberculose, inoculer le pus sous la peau d'un cobaye, ou, s'il ne contient pas de germes associés, dans le péritoine. Si le Bacille de Koch est en cause, les lésions se développent ultérieurement : dans le premier cas, sous forme d'un chancre cutané tuberculeux suivi de tuberculose généralisée ; dans le second, sous forme de péritonite et d'infection tuberculeuse généralisée.

Si l'on pense au Pneumocoque, inoculer directement le pus sous la peau d'une souris, qui succombera en vingt-quatre heures de pneumococcie généralisée.

Pour la peste, inoculer sous la peau un rat, une souris, un cobaye, très sensibles à l'infection pesteuse.

Pour la morve, inoculer un cobaye mâle dans le péritoine pour déterminer l'orchite caractéristique.

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DES CRACHATS.

L'analyse bactériologique des crachats est l'une des expertises les plus couramment demandées aux laboratoires.

Tantôt il s'agit de constater si les crachats renferment des Bacilles

tuberculeux tantôt on cherche d'autres microbes, spécialement Pneumocoque, le Streptocoque, le parfois le Bacille pesteux, la Bactériecharbonneuse, etc. Nous donnons ci-dessous la liste des germes pathogènes qu'on est exposé à rencontrer éventuellement ; on voudra bien se reporter à la première partie de ce livre pour l'étude de chaque microbe en particulier.

Bacille tuberculeux.	*Micrococcus catarrhalis.*	Bacille de Pfeiffer.
Pneumocoque.	Méningocoque.	Bactérie charbonneuse.
Streptocoque.	Pneumobacille.	*Actinomyces.*
Entérocoque.	Bacille pesteux.	*Aspergillus fumigatus.*
Tétragène.	Bacille de la coqueluche.	Oosporoses.

Observations générales. — Les indications données à propos du pus en ce qui concerne l'expédition, les renseignements, etc., sont valables au même titre pour les crachats.

Prélèvement. — Voy. chap. XIII.

1. **Recherche des microbes autres que le Bacille tuberculeux** — L'examen direct présente ici une importance capitale : l'agent pathogène est généralement décelable, et en assez grande quantité. On réserve l'inoculation pour quelques cas particuliers. Les cultures ne sont indiquées qu'assez rarement.

Examen direct. — *Préparation des frottis.* — Pour débarrasser le crachat des souillures dont il s'est chargé pendant la traversée buccale, il est bon de le laver tout d'abord dans un tube d'eau physiologique. A l'aide d'une pince, on en prélève ensuite une parcelle dans sa portion la plus épaisse.On l'étale sur une lame de verre, en couche aussi mince et uniforme que possible ; dans ce but, on promène la parcelle de crachat à sa surface à l'aide d'une autre lame ; il faut éviter de l'écraser entre les deux lames, comme on le pratique assez souvent.

Si le crachat est trop épais pour subir un étalement convenable, il convient, une fois déposé sur la lame, de le dissocier légèrement.

S'il est muqueux, le placer préalablemen t su un papier-filtre qui absorbe la partie liquide; prélever alors la portion restante, qu'on étalera comme précédemment.

Le frottis effectué, laisser sécher à l'air (sans chauffer, pour ne pas coaguler l'albumine) ; après dessiccation complète, fixer par la chaleur en passant la préparation à deux ou trois reprises dans la flamme d'un bec Bunsen.

On prépare ainsi deux à trois lames.

Coloration. — Sur l'une des préparations, faire une coloration simple, de préférence par la thionine phéniquée, qui permettra

une orientation d'ensemble pour déterminer la forme des bactéries décelées, la présence ou l'absence de capsules, etc.

Une deuxième préparation sera colorée par la méthode de Gram. Après lavage et séchage, observer au microscope.

Cet examen décèle la présence de *cellules* plus ou moins nombreuses suivant les cas : *leucocytes dégénérés* provenant de la région touchée par le processus pathologique ; *grandes cellules plates*, polygonales, provenant de la muqueuse buccale et contenant fréquemment une foule de germes, cocci pour la plupart, que l'observateur doit éliminer de son examen.

Enfin on trouve de nombreux germes, mais n'appartenant pas tous à la même espèce : les uns sont les microbes responsables de l'affection en cause (ce sont habituellement, à part de rares exceptions, les plus abondants) ; les autres sont des bactéries diverses appartenant à la flore de l'air atmosphérique, ou recueillies par le crachat dans sa traversée bucco-pharyngée (cocci quelconques, sarcines, leptothrix, levures, etc.). Ne porter attention, en général, qu'aux germes les plus nombreux.

Un simple examen direct suffira souvent en pratique à déterminer la présence du Streptocoque, du Pneumobacille, de l'Aspergillose, des Oosporoses, même du Pneumocoque (avec lequel on pourra parfois confondre l'Entérocoque).

Dans d'autres cas, un complément d'observation est nécessaire ; on peut alors avoir recours soit aux cultures, soit aux inoculations.

Cultures. — Les cultures auront d'autant plus de chances de réussir que le microbe cherché est plus abondant ; l'examen direct donnera des indications utiles à cet égard. Il est souvent facile de cultiver les microbes spécifiques, même très fragiles, quand ils se trouvent en culture presque pure ; ainsi le Bacille de la coqueluche, le Bacille de Pfeiffer, le Bacille pesteux, dans beaucoup de cas.

On aura soin de pratiquer les cultures sur milieux d'isolement, adaptés au microbe cherché : gélose ordinaire, gélose-ascite, gélose-sang, suivant les circonstances, ou suivant les suggestions fournies par l'examen direct.

Les précautions indiquées chapitre XIII seront ici rigoureusement indispensables ; il faut, en effet, se débarrasser des germes provenant de la bouche ou du pharynx, d'autant plus que ces germes sont nombreux et leur culture exubérante.

Inoculations. — L'inoculation sera pratiquée soit à l'aide du crachat lui-même, soit à l'aide des cultures qui en sont issues.

Il y a lieu de s'adresser aux inoculations, surtout pour déceler le Pneumocoque, le Bacille pesteux ou le charbon bactéridien.

La recherche du Pneumocoque sera faite par inoculation sous-cutanée à la souris ou au lapin ; nous préférons le lapin, parce que la souris est tellement réceptive au Pneumocoque qu'elle succombe à l'inoculation du Pneumocoque normal de la bouche, qu'on n'est jamais sûr d'avoir complètement éliminé par les lavages.

Les crachats pesteux seront inoculés à la souris ou au cobaye, suivant les procédés indiqués chapitre LXII.

La recherche du charbon bactéridien demande l'inoculation sous-cutanée au cobaye (chapitre XXVII).

II. **Recherche du Bacille tuberculeux. — Coloration.** — La coloration constitue le procédé habituel de diagnostic dans les crachats.

Les crachats seront recueillis et étalés comme il est indiqué ci-dessus ; on s'adressera aux parties centrales des crachats nummulaires; sinon, aux crachats striés de sang; sinon, aux parties solides des crachats muqueux.

En ce qui concerne le mode de coloration, on peut ordinairement se servir de l'une quelconque des méthodes indiquées pour le Bacille de Koch.

En effet, dans les crachats, il est exceptionnel de rencontrer des Bacilles paratuberculeux, sauf dans deux circonstances : gangrène pulmonaire et dilatation des bronches. En présence de crachats putrides, il faudra donc employer une technique rigoureuse, susceptible de différencier le Bacille de Koch de la plupart des acido-résistants.

Dans tous les autres cas, la constatation de Bacilles colorés par les méthodes habituelles suffit pour affirmer le diagnostic.

Si l'examen fait comme il vient d'être dit demeure négatif, il faut répéter les examens plusieurs fois, et pendant plusieurs jours. On peut faciliter la recherche en s'adressant à l'homogénéisation des crachats.

Homogénéisation des crachats. — Cette méthode se propose de liquéfier tous les éléments des crachats, sauf le Bacille tuberculeux, qui est très résistant ; on obtient ainsi un liquide *homogène*. Les Bacilles qu'il renferme sont ensuite concentrés par une technique appropriée.

On a proposé, pour l'homogénéisation, nombre de procédés ; nous ne retiendrons que les plus pratiques.

Procédé de Spengler. — Additionner les crachats de leur volume d'eau chaude, alcaliniser légèrement par la soude ; ajouter 1 à 2 p. 100 de pancréatine, mélanger exactement, placer à 37°. Après deux à trois heures, centrifuger la partie liquide. Examiner le culot.

Procédé de Jacobson. — Ce procédé associe les deux procédés anté-

rieurs de Uhlenhuth et Xylander (à l'antiformine) et de Lange et Nitsche (à la ligroïne).

L'antiformine, mélange d'eau de Javel et de soude, dissout tous les éléments, sauf les Bacilles acido-résistants. La ligroïne (éther de pétrole) fait émulsion; ses gouttelettes captent par adhérence les corpuscules (y compris les Bacilles) et viennent ensuite se collecter à la surface.

Après avoir dissocié les crachats dans un peu d'eau distillée, on ajoute cinq fois leur volume d'antiformine à 40 p. 100, on place à 37°; en deux à trois heures, la masse est liquéfiée. A ce moment on ajoute de la ligroïne sur une épaisseur de 2 à 3 millimètres; agiter fortement, puis laisser reposer à l'étuve : les gouttelettes de ligroïne remontent à la surface, entraînant les Bacilles. Après une demi-heure de repos, on prélève la partie profonde souvent blanchâtre) de la couche de ligroïne, et on examine après coloration.

Procédé de Bezançon et Philibert. — Bezançon et Philibert homogénéisent par la méthode la plus simple, l'ancienne méthode de Biedert; ils apprécient ensuite la densité du liquide et la rectifient au besoin pour que les Bacilles puissent tomber au fond du liquide; il faut qu'ils soient plus lourds que ce liquide : or la densité du Bacille varie de 1,010 à 1,080 (Dilg); celle des liquides homogénéisés entre 0,990 et 1,120; dans certains cas, il est donc nécessaire de diminuer la densité du milieu, en pratique à 1,004 au plus.

1° Mesurer le volume du crachat (éprouvette graduée); mesurer dix fois son volume d'eau. Verser dans une capsule de porcelaine le crachat, la moitié de l'eau et autant de gouttes de lessive de soude qu'il y a de centimètres cubes de crachat.

2° Chauffer doucement, environ dix minutes, en agitant, et versant peu à peu le reste de l'eau. Laisser refroidir.

3° Prendre la densité. Si elle dépasse 1,004, ajouter la quantité voulue d'alcool à 50° pour ramener à 1,000.

4° Centrifuger le liquide pendant une heure. Recueillir le culot, étaler, colorer.

Quelle que soit la méthode employée, les crachats traités par homogénéisation seront toujours colorés par une méthode susceptible d'éliminer les acido-résistants (de préférence le Ziehl-Neelsen).

Aspect et nombre des bacilles. — Les bacilles se montrent le plus souvent homogènes, parfois granuleux, comme formés de grains séparés; ils sont tantôt longs, tantôt courts; ordinairement isolés, plus rarement en amas. Enfin leur nombre est très variable; on en trouve parfois 100 et plus par champ de microscope, et inversement on peut n'en rencontrer qu'un seul sur toute une préparation.

Ces variations morphologiques et numériques ont-elles quelque importance? Il paraît tout d'abord certain qu'il n'y a pas de rapport étroit entre les données cliniques et telle ou telle des variations précédentes. Il est seulement établi que la présence d'un grand nombre de bacilles implique un foyer en voie de fonte, donc une étape relativement avancée

de la maladie ; mais inversement, un nombre peu élevé de bacilles peut correspondre à toutes les phases de la tuberculose pulmonaire, depuis le début jusqu'à la fin. D'ailleurs, chez un même sujet, on peut voir le nombre des bacilles varier beaucoup d'un jour à l'autre.

En ce qui concerne la morphologie, d'après Piéry et Mandoul, les bacilles granuleux longs appartiendraient surtout à la fonte caséeuse ; les homogènes courts, en grand nombre, caractériseraient les formes aiguës de la maladie. Ces recherches mériteraient confirmation ; il ne nous a pas semblé pour notre part qu'il y eût quelque rapport entre l'aspect ou le nombre des bacilles et la forme ou l'évolution clinique de la maladie.

Associations microbiennes. — En outre du Bacille de Koch, les crachats tuberculeux renferment presque toujours un nombre élevé d'autres microbes, décelables par simple examen microscopique ; les plus habituellement rencontrés sont le Tétragène, le Pneumocoque, le Streptocoque, le Bacille de Pfeiffer, des Leptothrix, parfois des levures. Il est probable que la coexistence des microbes de la suppuration doit aggraver le pronostic, mais il ne semble pas qu'il ait été fait d'études suivies sur ce point.

Inoculations. — S'il y a contradiction entre les probabilités cliniques et le résultat négatif de l'examen direct, ou bien si la fétidité des crachats permet de soulever l'hypothèse de bacilles acido-résistants et frappe de suspicion les résultats positifs de l'examen direct, on inoculera au cobaye (inoculation sous-cutanée) ; les suites de l'inoculation seront appréciées comme il a été dit à propos du Bacille tuberculeux.

Cultures. — En raison de la présence d'autres microbes plus aptes à végéter dans les milieux de culture, le Bacille tuberculeux des crachats est assez difficile à cultiver, sauf quand il est très abondant ; mais la culture est alors tout à fait inutile. En fait, la culture du bacille des crachats n'est qu'une curiosité de laboratoire.

Dans tous les procédés, il faut d'abord recueillir purement et laver le crachat (chap. XIII). On peut ensuite, à l'exemple de Pastor, ensemencer en plaques sur milieux ordinaires, et quelques jours après prélever les portions vierges de la surface pour les ensemencer sur milieux appropriés au Bacille de Koch. Spengler propose deux procédés, basés sur la résistance du bacille : étaler les crachats en couche mince en boîte de Petri, saupoudrer de pancréatine, garnir le couvercle de papier imprégné de formol, laisser deux heures à l'étuve, ensemencer, ou bien prélever sur un fil de platine gros comme une noisette de crachat nummulaire, rôtir trois fois de suite à la flamme sans détacher le bloc, ensemencer la parcelle rôtie qui persiste.

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DES ANGINES.

L'analyse bactériologique des angines n'est habituellement demandée et effectuée que pour établir ou infirmer le diagnostic de diphtérie vers lequel on est souvent orienté. Il est, cependant, de

multiples infections bucco-pharyngées dont il est important de connaître la cause microbienne.

Outre l'angine diphtérique, on connaît les angines à *Streptocoques*, *Staphylocoques*, *Pneumocoques*, *Méningocoques*, etc., qui peuvent revêtir les types pultacé, folliculaire, herpétique, voire même pseudo-membraneux ; les angines à *coccus Brisou* donnant lieu à des fausses membranes analogues à celles de la diphtérie ; les angines à Pneumobacilles, les angines ulcéreuses ou ulcéro-membraneuses produites par la symbiose fuso-spirillaire.

Or il est bien évident que, dans la plupart des cas, l'examen clinique seul ne peut renseigner exactement sur la nature du ou des germes pathogènes qui ont déterminé l'infection ; au cas même où les signes cliniques imposent le diagnostic, comme il arrive s'il s'agit de diphtérie, le contrôle par l'examen bactériologique est indispensable ; ce dernier, d'ailleurs, apporte un secours précieux pour le diagnostic des *associations secondaires*, dont l'importance pronostique ne peut être méconnue.

Ces analyses comportent l'examen direct et les cultures.

Or, c'est le plus souvent sur les résultats donnés par les cultures qu'on s'appuie pour établir un diagnostic. Widal et Bezançon ont cependant démontré que de tels résultats pouvaient être entachés d'erreur ; l'ensemencement de gorges, mêmes normales, donne lieu souvent, en effet, à des colonies nombreuses, même confluentes, de Streptocoques ou de tout autre germe banal, saprophyte de la cavité bucco-pharyngée, et qu'on est ainsi tenté, si la gorge est malade, de prendre pour un germe pathogène. Aussi le seul examen des cultures est-il susceptible de prêter à confusion.

L'examen direct des frottis d'exsudat pseudo-membraneux ou pultacé renseigne davantage, car il permet de mettre en évidence la prédominance de tel ou tel microbe, et de lui attribuer ainsi un rôle mieux défini dans la pathogénie des infections de la région. Il est d'autant plus indiqué dans les cas où le germe pathogène n'est pas cultivable, comme dans l'angine de Vincent.

L'examen direct des frottis présente donc une grosse importance qu'on a trop souvent le tort de méconnaître. La culture reprend tous ses droits quand on veut isoler et identifier les germes décelés par l'observation microscopique.

Prélèvement. — Faire gargariser tout d'abord le malade à l'eau bouillie pour enlever le plus possible les impuretés microbiennes ; faire ouvrir la bouche du patient, abaisser la langue à l'aide d'une spatule, et introduire dans la gorge un tampon d'ouate monté sur un agitateur de verre, ou une tige métallique ou de bois, ou encore

une pince à forcipressure (certains laboratoires ont, à la disposition constante du praticien, une série de tubes contenant un tampon d'ouate monté sur un agitateur de verre, tout l'appareil étant stérilisé préalablement au four Pasteur). Détacher une parcelle de l'exsudat ou de la fausse membrane à examiner, en frottant légèrement à l'aide du tampon et en lui imprimant au besoin un mouvement de rotation. Dans cette manœuvre, faire le moins de traumatisme possible, et éviter de faire saigner la muqueuse sous-jacente.

Expédition au laboratoire. — Si l'examen ne doit pas être pratiqué sur place, envoyer le produit au laboratoire ; pour cela, le placer dans un tube stérile, que l'on bouchera à l'aide d'un bouchon de caoutchouc pour éviter la dessiccation ; ou bien l'envelopper dans du taffetas gommé. Si l'on n'a pu ramener aucun exsudat, mais seulement du mucus, introduire le coton imbibé de ce dernier dans un tube stérile à l'abri de la dessiccation, comme précédemment.

Avec cet envoi, le praticien ne devra pas omettre d'indiquer au laboratoire le type clinique de l'angine observée : angine pultacée, cryptique, pseudo-membraneuse, ulcéreuse, etc. Ces données constituent souvent un secours précieux pour le bactériologiste, qui orientera ses recherches suivant les renseignements fournis.

Examen bactériologique. — Dans tous les cas, faire d'abord un examen direct après coloration, puis des cultures.

Examen direct. — Détacher une parcelle du produit prélevé. Enlever la salive qui l'imbibe par du papier buvard. Faire un frottis aussi mince que possible. Laisser sécher à l'air. Fixer par la chaleur. Colorer.

Pour la coloration, employer toujours la méthode de Gram avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée, car dans la plupart des préparations on trouve des germes prenant et ne prenant pas le Gram.

Le microscope montrera, suivant le cas, des germes divers : des Leptothrix, des Spirilles habituellement rares, hôtes saprophytes de la cavité buccale, des cocci isolés, en zooglées, ou en diplocoques, ou en chaînettes, des bâtonnets divers pouvant ressembler plus ou moins au Bacille de Löffler. Toutes ces constatations sont utiles, car la morphologie des germes rencontrés peut déjà orienter le bactériologiste sur leur nature et sur les méthodes de culture qu'il devra employer pour leur isolement et leur identification.

Parfois même, cet examen direct, pratiqué à la période aiguë de l'affection, permet déjà d'établir un diagnostic ; c'est le cas de l'angine fuso-spirillaire de Vincent ; un frottis de la pulpe putrilagineuse de cette variété d'angine présente, en effet, l'aspect caractéristique décrit plus haut.

Cultures. — Comme le plus souvent l'analyse bactériologique est demandée pour s'assurer de la présence ou de l'absence de la diphtérie, la mise en culture s'effectue habituellement dans les milieux électifs pour le Bacille de Löffler. Cette culture spéciale est légitime, en effet, car l'examen direct peut révéler, à côté de cocci et microbes divers, des bâtonnets prenant le Gram, ressemblant au Bacille de Löffler ; la culture seule permet de les identifier. De même, il arrive que, sur un processus d'apparence banale, comme l'angine phlegmoneuse par exemple, se greffe le processus diphtérique, qu'il soit primitif ou secondaire.

Enfin, on connaît quelques atteintes d'angine de Vincent qui se sont accompagnées de diphtérie.

L'ensemencement en tubes de *sérum coagulé* s'impose donc dans la plupart des cas ; on ensemence l'exsudat ou la fausse membrane en strie sur trois tubes sans recharger le tampon d'ouate.

On soumet ensuite les colonies pures qui ont poussé aux différentes épreuves capables d'identifier le Bacille de Löffler et de les différencier des colonies des bacilles diphtérimorphes.

Pour déceler par la culture la plupart des autres germes, on emploie les tubes ou les plaques de *gélose ordinaire*, qui laisse pousser abondamment le Streptocoque, le Pneumobacille, le Staphylocoque, le Tétragène, le Colibacille, etc. ; ce milieu peut convenir encore pour le Pneumocoque.

On emploie la *gélose-ascite* (agar à 3 p. 100 : 3 parties ; ascite : 1 partie) quand l'examen direct a montré une assez grande abondance de cocci en grains de café, ne prenant pas le Gram, pouvant être rapportés soit au Méningocoque, soit à des pseudo-Méningocoques.

L'ensemencement s'effectue de préférence sur trois boîtes de Petri, où l'on a préalablement coulé ce milieu spécial.

Ce n'est que dans des cas exceptionnels qu'on utilisera d'autres milieux, notamment la *gélose sucrée* de Sabouraud, pour déceler la sporotrichose pharyngée, l'oosporose, la *gélose* et la *pomme de terre glycérinées* pour l'actinomycose, la *gélose acide* (une goutte d'acide lactique dans 10 centimètres cubes de gélose, etc.).

Coupes et coloration de la fausse membrane. — On peut se rendre un compte assez exact du rôle qu'a joué un germe dans la pathogénie d'un processus pseudo-membraneux en examinant les coupes de la fausse membrane. La qualité des germes découverts ainsi par l'examen microscopique peut donner des renseignements utiles.

Dans ce but : fixer la fausse membrane par l'alcool absolu, l'inclure dans la paraffine, débiter en coupes. Colorer les coupes par la thionine,

ou de préférence par la méthode de Gram avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée.

Inoculations. — Il est rare qu'on ait à inoculer directement à l'animal les produits bucco-pharyngés; les inoculations ne sont pratiquées qu'avec les cultures provenant des colonies isolées qui ont poussé sur les milieux après isolement; elles sont utilisées surtout pour identifier le Bacille de Löffler, le Pneumocoque.

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN.

Nombreuses sont les variétés de microbes capables d'infecter les méninges. En dehors des *Méningocoques* et des *pseudo-Méningocoques*, on connaît les méningites dues au *Streptocoque*, *Staphylocoque*, *Pneumocoque*, *Pneumobacille*, *Colibacille*, *Bacille typhique*; en quelques observations on a retrouvé du *Gonocoque* authentique ; on cite quelques faits où l'*actinomycose* est en cause ; la *tuberculose* des méninges est une infection courante. Enfin il faut rappeler les réactions qui se produisent au cours de maladies dont les germes sont inconnus, *poliomyélite*, *oreillons*, sans omettre ceux qui, bien que connus, ne sont pas décelables, comme dans la *méningite syphilitique*.

Or, si en certains cas la clinique seule peut mettre le praticien sur la voie du diagnostic, le plus souvent, pour confirmer nettement ce dernier, il faut avoir recours aux méthodes de laboratoire ; c'est à l'analyse bactériologique du liquide céphalo-rachidien qu'il convient de s'adresser.

Prélèvement du liquide céphalo-rachidien. — Le prélèvement du liquide céphalo-rachidien s'effectue en pratiquant une *ponction lombaire*. En voici la technique :

Elle peut s'effectuer, le malade étant assis ou couché.

Dans le premier cas, le malade s'asseoit sur le bord du lit, tournant le dos à l'opérateur, les bras accolés au tronc, les jambes pendantes, la tête fléchie ; la colonne vertébrale courbée en avant pour « faire le gros dos », attitude qui exagère l'écartement des apophyses épineuses. Cette position assise, très commode pour l'opérateur, est souvent impossible à réaliser pour un malade atteint de méningite. De plus, elle expose à des syncopes, puis, quand l'aiguille a pénétré dans le canal rachidien, à une issue trop brusque du liquide céphalo-rachidien, habituellement en hypertension.

Le décubitus latéral est donc préférable. Le malade est couché sur le bord du lit; les cuisses sont fortement fléchies sur l'abdomen, les jambes sur les cuisses, la tête sur le thorax. Ici encore, le sujet, en faisant le gros dos, écarte ses apophyses épineuses. La tête repose sur un traversin pas trop élevé.

Enfin on aura recours à un aide pour maintenir la sujet et l'empêcher de faire des mouvements brusques au moment de la piqûre.

On aseptise soigneusement le champ opératoire ; on savonne, puis, après avoir essuyé, on lave avec un coton imbibé d'alcool-éther, puis au sublimé.

On repère ensuite l'espace intervertébral où l'aiguille sera introduite. L'espace de choix est celui qui sépare la quatrième de la cinquième vertèbre lombaire. Pour le trouver, il suffit de joindre par une ligne horizontale la partie la plus élevée des deux crêtes iliaques; elle passe habituellement par le sommet de l'apophyse épineuse de la quatrième lombaire; l'espace situé au-dessous est celui que l'on doit choisir.

Entre temps, l'opérateur s'est muni d'une aiguille dite à ponction lombaire : aiguille de Tuffier ou de Krœnig.

L'aiguille de Tuffier est une aiguille de platine, longue de 8 centimètres et mesurant 1 millimètre de diamètre extérieur : l'extrémité piquante est taillée en biseau court. Elle est munie d'un mandrin intérieur, petit fil métallique résistant.

L'aiguille de Krœnig est analogue, mais elle est munie d'un robinet destiné à modérer l'issue du liquide quand l'hypertension du liquide céphalo-rachidien est trop considérable, et à éviter ainsi les accidents dus à une décompression trop brusque.

L'aiguille qu'on emploie doit être stérilisée à l'autoclave à 120° pendant vingt minutes. Dans la pratique courante, une ébullition d'une demi-heure est suffisante.

L'opérateur, qui a assuré l'antisepsie de ses mains, est alors prêt pour la ponction : de l'index de la main gauche, il repère l'espace intervertébral qu'il a choisi; de la main droite, il prend comme une plume à écrire l'aiguille munie de son mandrin et pique les téguments sur la *ligne médiane*. Après ce premier temps, il l'enfonce alors profondément, d'avant en arrière, et légèrement de bas en haut : il traverse ainsi le ligament interépineux, puis l'aiguille est momentanément arrêtée sur le ligament jaune qui offre une certaine résistance à la pénétration : on pousse alors un peu plus fortement, on éprouve la sensation de traverser une barrière à consistance cartilagineuse ; aussitôt cette sensation perçue, l'aiguille qui a traversé du même coup la dure-mère et les feuillets de l'arachnoïde tombe dans l'espace sous-arachnoïdien. On retire le mandrin, et le liquide s'écoule par l'extrémité de l'aiguille ouverte à l'extérieur. On en recueille ainsi 5 à 10 centimètres cubes dans un tube stérile.

La piqûre peut encore être pratiquée, non plus sur la ligne médiane, mais à 1 centimètre de cette dernière : on dirige alors l'aiguille un peu obliquement en haut et en dedans pour la faire passer entre les lames vertébrales.

Expédition. — Pour l'expédition, boucher hermétiquement le tube à l'aide d'un bouchon de caoutchouc ou de liège; prendre les précautions stipulées dans la circulaire du ministre de l'Intérieur, du 2 février 1912, c'est-à-dire entourer le tube d'ouate et l'introduire dans un étui métallique, et placer celui-ci dans une boîte de bois, parfaitement close.

Cet envoi devra être fait le plus rapidement possible après avoir recueilli le liquide céphalo-rachidien, et par les voies les plus directes.

Expertise bactériologique. — Que le liquide céphalo-rachidien soit clair ou trouble, on doit toujours le soumettre à la *centrifugation*, dans des tubes effilés. Centrifuger pendant dix à quinze

minutes, quand le liquide est clair ; une centrifugation de cinq minutes suffit, quand il est trouble, pour obtenir un culot très appréciable, sinon abondant.

Après centrifugation, décanter le liquide surnageant soit avec une pipette stérile, soit simplement en renversant le tube obliquement ; le culot restera dans la partie effilée du tube, où il pourra être facilement prélevé pour l'examen.

Il est bon de conserver une partie du liquide centrifugé pour l'analyse chimique (glucose, chlorures, cendres, etc.).

Examen direct. — Avec une pipette fine, puiser tout ou partie

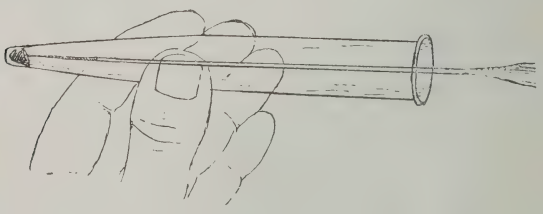


Fig. 360. — Manière de recueillir le culot de centrifugation.

du culot (fig. 360). Étaler soigneusement sur plusieurs lames, pour en faire des frottis minces et uniformes. Laisser sécher. Fixer à l'alcool-éther. Colorer.

Faire tout d'abord une coloration simple, à la thionine phéniquée, par exemple, qui, par les constatations cytologiques et microbiennes qu'elle assure, donnera au diagnostic une certaine orientation.

Deux éventualités peuvent se produire :

1° Le frottis examiné montre une leucocytose variable suivant les cas en qualité ou en quantité (polynucléose ou lymphocytose) et *absence complète de microbes.*

Dans ce cas, plusieurs hypothèses sont à envisager :

S'il existe de la polynucléose prédominante, noter avec soin l'état des polynucléaires ; ils peuvent être normaux ou altérés. S'ils sont normaux, penser à la *méningite aseptique* de Widal et de ses élèves. S'ils sont altérés, ils peuvent être le reflet d'une méningite microbienne, mais dont les microbes, très rares, passent inaperçus : c'est ce qui arrive parfois dans la méningite méningococcique.

En cas de lymphocytose prédominante ou exclusive, penser à la *méningite tuberculeuse*, où le Bacille de Koch n'est décelable que par des procédés spéciaux. On effectuera alors une coloration par la méthode de Ziehl, comme pour mettre en évidence le Bacille tuber-

culeux dans les crachats. Cette technique permet de déceler assez fréquemment et d'établir ainsi d'emblée le diagnostic.

Si cette recherche reste négative, il faut envisager diverses hypothèses : celles d'une méningite syphilitique, saturnine, ourlienne, enfin d'une réaction méningée amicrobienne survenant au cours d'infections diverses (pneumonie, bronchopneumonie, scarlatine, rougeole, érysipèle, etc.).

2° Le frottis montre une leucocytose encore variable (polynucléaires ou lymphocytes), mais aussi des *microbes* : cocci isolés ou en grappes, en chaînettes, en diplocoques, en tétrades, bâtonnets divers, tous ces germes pouvant être contenus dans l'intérieur des polynucléaires ou de larges cellules endothéliales ou extracellulaires.

En ce cas, colorer une nouvelle lame par la méthode de Gram avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée à 1 p. 10, pour déterminer si les microbes décelés se rangent dans l'une ou l'autre catégorie des germes prenant ou ne prenant pas le Gram.

On pourra déjà ainsi diagnostiquer la présence du Staphylocoque, du Streptocoque sans avoir besoin de recourir aux cultures, mais pour tous les autres germes, celles-ci s'imposent pour arriver à les identifier complètement.

Mise en culture. — Suivant la nature des germes rencontrés à l'examen microscopique, on recourra à des milieux différents.

Si l'on a constaté un coccus en grain de café, ne prenant pas le Gram, suspect par conséquent d'être du Méningocoque ou un pseudo-Méningocoque, ou du Gonocoque, on ensemencera en gélose-ascite (3 parties de gélose pour 1 partie d'ascite), ou en milieux succédanés Voir d'ailleurs la technique spéciale à la recherche du Méningocoque.

En cas de diplocoque lancéolé, encapsulé, prenant le Gram, penser au Pneumocoque et ensemencer sur gélose ordinaire, ou de préférence en gélose-ascite, où les colonies se développent plus abondamment.

S'il s'agit d'un bâtonnet, qui peut être du Bacille typhique, du Colibacille, du Pneumobacille, du Pyocyanique, etc., on peut se contenter d'ensemencer en gélose ordinaire.

D'après Bezançon et Griffon, on pourra utiliser la gélose-sang pour cultiver le Bacille tuberculeux.

Quel que soit le milieu employé, ensemencer largement la surface à l'aide de la plus grande partie du culot de centrifugation obtenu.

Au bout de vingt-quatre à trente-six ou quarante-huit heures d'étuve, des colonies ont poussé ; il faut les identifier. En prélever une

parcelle, l'émulsionner dans une gouttelette d'eau versée sur une lame. Colorer. Selon le microbe constaté, repiquer les colonies sur divers milieux capables d'assurer sa détermination exacte ; recourir, au besoin, à l'inoculation à l'animal, et à la recherche de ses propriétés biologiques spécifiques.

Inoculation à l'animal. — On peut inoculer ces cultures, mais aussi parfois le liquide céphalo-rachidien total. Ces inoculations de liquide céphalo-rachidien sont indiquées surtout pour la recherche du *Pneumocoque*; les résultats qu'elles donnent sont très rapidement obtenus; il suffit d'en introduire 1 à 2 centimètres cubes sous la peau, ou 0cc,25 à 0cc,50 dans le péritoine d'une souris pour conférer à cette dernière une septicémie mortelle en vingt-quatre à trente-six heures.

Pour la recherche de la *tuberculose*, suivre la technique de Widal : injecter dans le péritoine d'un cobaye 10 centimètres cubes de liquide céphalo-rachidien. Si le Bacille de Koch est en jeu, l'animal présentera au bout de quelques semaines une tuberculose péritonéale, puis généralisée, avec les lésions connues. Mais les résultats ne peuvent être constatés que tardivement, ce qui rend cette inoculation impraticable pour un diagnostic rapide.

On peut encore employer le procédé de Nattan-Larrier et Griffon, et injecter quelques gouttes du liquide dans la mamelle d'un cobaye femelle en lactation ; s'il véhicule du Bacille de Koch, une tuberculose rapide de la mamelle se déclare, et, au bout de huit à dix jours, l'examen du lait montre des Bacilles tuberculeux décelables par la méthode de coloration habituelle.

ANALYSE DES EXSUDATS SÉRO-FIBRINEUX.

Nous aurons en vue les exsudats de la plèvre, du péritoine, des articulations.

Deux cas peuvent se présenter : le liquide est *purulent*, ou bien il est *séro-fibrineux*.

I. **Exsudats purulents.** — Lorsque le liquide est purulent, on se comportera comme il a été indiqué plus haut pour le pus. Rappelons que les microbes les plus fréquemment rencontrés en pareilles circonstances sont :

Pour la plèvre : Streptocoque, Pneumocoque, Staphylocoque, Bacille de Koch, plus rarement, Colibacille, Tétragène, etc. ;

Pour le péritoine : Colibacille, microbes anaérobies ;

Pour les articulations : Gonocoque, Pneumocoque, Streptocoque, Staphylocoque, Bacille de Koch.

II. **Exsudats séro-fibrineux.** — 1° La plupart des épanchements

fibrineux, surtout ceux de la plèvre, se coagulent spontanément après la ponction. D'autre part, il semble que le caillot forme en quelque sorte un filet et englobe la majeure partie des microbes. Par suite, les procédés d'analyse demandent souvent une technique un peu spéciale, imitée de l'analyse du sang.

2° L'agent le plus habituel des exsudats non purulents de la plèvre ou du péritoine est le *Bacille tuberculeux*; on sait en effet que toute pleurésie dite « primitive » est tuberculeuse (Kelsch et Vaillard), et il en est de même de la plupart des ascites inflammatoires. Mais on peut rencontrer parfois, dans les exsudats séro-fibrineux de la plèvre, d'autres microbes : Pneumocoque, Streptocoque, Staphylocoque, Bacille typhique, etc.

3° On se rappellera la règle suivante : sauf quelques cas particuliers. où les circonstances cliniques démontrent que l'exsudat n'est pas tuberculeux (par exemple, pleurésies accompagnant la pneumonie franche), *la constatation de la présence d'une espèce microbienne spécifique* (Pneumocoque, Streptocoque, Staphylocoque, etc.) *n'exclut aucunement la possibilité d'une infection tuberculeuse et ne dispense pas de chercher le Bacille de Koch* ; il est en effet avéré que les exsudats tuberculeux sont souvent infectés secondairement par des bactéries diverses.

4° Nous envisageons exclusivement ici le point de vue bactériologique et, par suite, nous n'avons à donner que les indications nécessaires à cet égard. Mais l'expert n'oubliera pas qu'il doit faire état de tous les renseignements obtenus en cours d'analyse ; spécialement dans le cas particulier, il faut noter et indiquer la *formule histologique*. On se souviendra qu'en général les processus aigus (pneumoniques, etc. ; début de la pleurésie banale) s'accompagnent de polynucléose. et les processus subaigus ou chroniques, surtout de mononucléose. Il peut exister en outre de grandes cellules endothéliales. Mais la présence d'éléments cellulaires, même très abondants, n'est pas fatalement la signature d'une infection microbienne *décelable*. Widal et ses élèves ont en effet montré qu'il peut exister des *pleurésies puriformes aseptiques*, avec leucocytes intacts et sans microbes décelables par examen direct ou culture, — contrairement aux *pleurésies purulentes*, qui présentent des leucocytes dégénérés et, en outre, renferment des microbes.

5° Au point de vue pratique, il y a lieu d'envisager successivement :

La recherche du Bacille de Koch ;

La recherche des microbes autres que le Bacille de Koch.

A. ***Recherche du Bacille de Koch.*** — Les procédés les plus usuels sont l'examen direct après concentration et l'inoculation au

cobaye ; la culture peut également être utilisée avec succès. L'examen direct immédiat est beaucoup plus aléatoire.

Examen direct immédiat. — On étale et fixe une goutte de liquide ; on colore par le procédé de Ziehl-Neelsen. Ce procédé ne donne pour ainsi dire jamais de résultat positif.

Examen direct après concentration des microbes. — Les Bacilles étant toujours peu nombreux, il y a intérêt à les concentrer sous un faible volume. Mais les résultats obtenus par les procédés de cet ordre sont actuellement indécis : il est certain qu'on a souvent confondu le Bacille de Koch avec les bacilles acido-résistants, fréquemment présents dans les liquides pleuraux.

Quel que soit le procédé employé, il faut s'astreindre à pratiquer une coloration rigoureusement élective, susceptible de ne pas laisser d'hésitation en ce qui concerne les acido-résistants.

1° Les exsudats *non coagulables spontanément* peuvent être centrifugés ; on examine le culot.

Le résultat est généralement négatif.

2° Pour les liquides *spontanément coagulables*, on s'adresse au caillot.

a. On peut se contenter de dilacérer le caillot à mesure qu'il se forme, en agitant avec des perles de verre stérilisées ; on centrifuge ensuite et on examine le culot (M. Labbé).

b. *Inoscopie.* — Jousset recueille le caillot en filtrant sur une compresse bouillie dans de l'eau alcaline ; on lave ensuite à l'eau distillée. Le caillot est alors mis à digérer avec 25 à 30 centimètres cubes de suc gastrique artificiel (Voy. plus loin *Anal. bactériol. du sang*), de préférence à 50° ; agiter de temps à autre. Une fois la digestion achevée (deux à trois heures), centrifuger, examiner le culot.

c. *Homogénéisation du caillot.* — Technique de Bezançon, Griffon et Philibert : additionner le caillot de quelques gouttes de lessive de soude (une goutte par centimètre cube de caillot), puis ajouter dix fois son volume d'eau, chauffer ; le caillot se dissout. Centrifuger, examiner le culot.

Cultures. — A la condition d'ensemencer le liquide sitôt extrait de l'organisme, avant coagulation, on peut obtenir des cultures des exsudats pleuraux tuberculeux.

a. Bezançon et Griffon ensemencent sur sang gélosé glycériné 1 centimètre cube d'exsudat par tube ; porter à 38°.

b. Le *procédé de Wetter*, culture sur pomme de terre glycérinée, paraît être le plus fidèle. Il donne souvent des résultats positifs, mais tardivement (trois à quatre semaines).

Dans de grands tubes à pommes de terre (20 cent. $\times$ 2 ; hauteur du fond, 4 cent.), on place un cylindre de pomme de terre et 8 centimètres cubes de la solution suivante, légèrement alcalinisée :

Peptone	1
Chlorure de sodium	0,5
Glycérine	10
Eau	100

Les tubes sont stérilisés comme d'habitude.

Pour l'usage, répartir dans une série de tubes 8 centimètres cubes d'exsudat, sitôt après ponction. Placer à l'étuve.

La fibrine se rétracte en grande partie sur le tubercule.

Les colonies apparaissent d'abord dans le réseau de fibrine.

Inoculation. — En raison de l'incertitude actuelle des autres procédés, c'est encore l'inoculation qui constitue le procédé de choix.

Qu'il s'agisse de liquide de pleurésie, d'ascite ou d'arthrite, on inoculera toujours dans le péritoine du cobaye.

1° Si le liquide n'est pas coagulable spontanément et qu'on en possède une assez grande quantité, il est préférable de centrifuger au préalable 40 à 80 centimètres cubes et d'inoculer le culot.

2° L'exsudat pleurétique nécessite une manœuvre spéciale : car il est spontanément coagulable, il renferme peu de bacilles, enfin il peut être toxique et tuer le cobaye par intoxication. Il est bon d'inoculer beaucoup d'exsudat, mais en plusieurs fois.

a. On utilisera avec avantage la technique de Le Damany :

Au moment de la ponction, le liquide est versé dans une série de tubes à essais, 10 à 20 centimètres cubes par tube. On inocule à un même cobaye le contenu d'un tube par semaine. Pour pratiquer cette inoculation (liquide et caillot), utiliser un tube à essai stérilisé, terminé par une effilure large de 3 à 5 millimètres ; verser dans le tube la dose d'exsudat à injecter ; inoculer dans le péritoine du cobaye, à travers une boutonnière. Continuer les inoculations jusqu'à épuisement du liquide, ou jusqu'à ce que les adhérences péritonéales empêchent les injections.

b. Widal et Ravaut inoculent le liquide avant coagulation, au lit même du malade.

Au moment de la ponction pleurale, on laisse deux aiguilles en place, l'une dans la plèvre du malade, l'autre dans le péritoine du cobaye ; on transvase immédiatement du malade au cobaye.

B. ***Recherche des microbes autres que le Bacille de Koch.*** — Le meilleur procédé est la culture. L'examen direct et l'inoculation ont des indications plus restreintes.

Examen direct. — Comme ci-dessus (examen immédiat). Coloration à la thionine et au Gram.

Cultures. — L'exsudat sera ensemencé largement, et dans une

grande quantité de milieu liquide (dix fois au moins le volume de l'exsudat). On adaptera le milieu au microbe cherché ; en général, bouillon ou bouillon-sérum.

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DU SANG.

A l'état normal, le sang est à peu près toujours stérile. Cependant, pendant la digestion, des germes intestinaux peuvent passer dans le chyle, et de là dans le sang (Nocard, Porcher et Desoubry) ; de même, chez les animaux en état de moindre résistance, surtout chez les animaux jeunes, on trouve assez souvent dans le sang des bactéries diverses (Sacquépée et Loiseleur, Garnier et Simon) ; mais ces infections sanguines sont tout à fait éphémères. En règle générale, le sang de l'homme, à l'état de bonne santé, est stérile.

A l'état pathologique, il n'en va pas de même. Il existe tout d'abord un certain nombre d'agents pathogènes qui se développent dans le sang même : Hématozoaire du paludisme, Spirille de la fièvre récurrente, etc. En outre, au cours de certaines maladies infectieuses, l'agent pathogène se trouve toujours ou peut se trouver éventuellement dans le sang ; mais, chez l'homme, les microbes sont en pareil cas presque toujours très rares ; aussi doit-on, pour les mettre en évidence, avoir recours à la culture du sang, l'examen direct étant impuissant à les déceler.

L'analyse du sang peut être pratiquée :

Par examen direct à l'état frais ;

Par examen direct après dessiccation et coloration ;

Par ensemencement (hémoculture) ;

Par inoculation.

I. **Examen direct à l'état frais**. — Ce mode d'examen est indiqué pour la recherche de l'Hématozoaire du paludisme, des Trypanosomes, des Piroplasmes, des Spirilles de la fièvre récurrente. Il donne rarement des résultats, du moins chez l'homme, cours des maladies microbiennes autres que les précédentes.

Technique. — Prélever le sang au doigt ou à l'oreille (Voy. chap. XIII). Recueillir une goutte de sang sur une lame ; couvrir d'une lamelle, en appuyant légèrement, sans écraser ; examiner (objectif à sec, fort).

La formation rapide du réticulum fibrineux gêne l'examen. Si l'observation doit être prolongée, on examinera en goutte pendante (chap. IX) ; enduire la lamelle de vaseline liquide, recueillir une goutte de sang sur la face enduite, renverser sur la lame creuse, luter les bords. Déposé sur vaseline, le sang ne se coagule que très lentement.

II. **Examen direct après coloration**. — L'examen après coloartion est tout indiqué d'abord dans les mêmes circonstances que

l'examen à l'état frais. On a en outre essayé de rassembler les microbes sous un faible volume de liquide, par des artifices divers.

Technique habituelle. — Le sang, prélevé comme d'habitude, est étalé, puis fixé et coloré.

Étalement (fig. 361). — Recueillir une petite goutte de sang vers le tiers de la lame. Avec une forte carte de visite, bord posé bien à plat sur la lame, étaler d'abord la goutte transversalement, puis, en appuyant nettement, la carte faisant avec la lame un angle de 45° environ, étaler très régulièrement sur les deux tiers de la lame. La couche de sang doit être mince, uniforme et continue. Laisser sécher à la température ambiante.

On peut substituer à la carte de visite une forte lamelle ou, à défaut, une lame rodée.

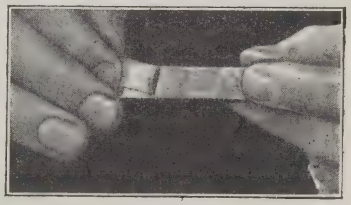


Fig. 361. — Étalement du sang sur lame.

Fixation. — Fixer la préparation par l'alcool absolu, ou, à défaut, l'alcool-éther (Chap. XV).

Coloration. — Pour la recherche des parasites du sang, on emploiera les procédés spéciaux indiqués ailleurs (Voy. *Hématozoaires*).

Techniques spéciales. — Pour mettre en évidence des microbes peu nombreux, on a proposé de dissoudre les globules rouges ou d'homogénéiser le caillot, pour centrifuger ensuite.

Dissolution des globules rouges. — On reçoit le sang dans vingt fois son volume d'eau distillée ; les globules rouges sont dissous. Le liquide, hémolysé, est centrifugé ; on examine le culot (Nattan-Larrier et Bergeron),

Homogénéisation du caillot. — Le caillot se comporte en partie comme un filet dont les mailles enserrent les microbes.

Technique de Jousset (inoscopie). — Laver le caillot pour dissoudre l'hémoglobine ; faire digérer ensuite la fibrine du caillot dans une solution de suc gastrique artificiel (pepsine, 3 gr. ; glycérine, 10 c. c. ; HCl, 10 c. c. fluorure de sodium, 3 c. c.; eau, 1 000), placer à 55°, agiter. Quand la fibrine est dissoute, centrifuger, examiner le culot.

Technique de Bezançon, Griffon et Philibert. — Broyer le caillot au mortier, ajouter 20 centimètres cubes d'eau et V à X gouttes de lessive de soude, porter à l'ébullition ; centrifuger, examiner le culot.

Jusqu'ici, ces divers procédés n'ont donné que peu de résultats. La découverte annoncée du Bacille tuberculeux ne repose peut-être que sur une erreur (Voy. *Bacilles acido-résistants*).

III. **Ensemencement.** — L'ensemencement du sang, — l'*hémoculture*, suivant l'expression proposée par l'un de nous, — est entrée dans la pratique courante depuis une dizaine d'années.

A cette époque, J. Courmont, Busquet, Widal et Lemierre, Sacquépée et Perquis ont établi que le Bacille typhique est constamment présent dans le sang au cours de la fièvre typhoïde humaine ; ces constatations ont été universellement confirmées depuis. Elles renversaient l'opinion admise jusqu'alors : on pensait en effet que le sang humain, même à l'état pathologique, ne renfermait presque jamais de microbes.

Dans la suite, l'hémoculture a permis de constater des infections sanguines très variées, dues au Streptocoque, au Pneumocoque, à l'Entérocoque, au Tétragène, au Méningocoque, aux Bacilles paratyphiques, au Bacille coli, au Pneumobacille, au Bacille pyocyanique, etc. Nous renvoyons pour les détails à l'étude particulière de chaque microbe.

L'importance clinique de l'hémoculture est considérable ; elle constitue à l'heure actuelle une base fondamentale du diagnostic dans un grand nombre de maladies.

Technique. — A. **Prélèvement du sang.** — On récolte le sang par ponction de la veine, suivant les indications données chap. XIII.

B. **Ensemencement.** — Le sang, obtenu par ponction de veine, peut être ensuite traité de plusieurs manières pour hémoculture. Il faut empêcher la coagulation, sans mettre obstacle à la culture.

Dans tous les cas, on ensemencera des quantités de sang relativement considérables, 3 à 5 et même 10 centimètres cubes, pour avoir le plus de chances de succès.

1° *Procédé de Castellani.* — On répartit 3 centimètres cubes de sang dans un ballon renfermant 300 à 500 centimètres cubes de bouillon ordinaire ou de milieu de Cambier (Voy. chap. XXXI). Agiter, mettre à 37°.

2° *Procédé de Sacquépée et Perquis.* — 15 à 20 centimètres cubes de sang sont tout d'abord recueillis dans un ballon renfermant des perles ou des fragments de verre, puis défibrinés par agitation pendant cinq minutes. A l'aide d'une pipette à effilure assez large, on répartit ensuite le sang défibriné en deux ballons de bouillon (100 centimètres cubes), à raison de 2 à 5 centimètres cubes par ballon. Le ballon renfermant le reste du sang avec le tampon de fibrine est additionné de 20 à 50 centimètres cubes de bouillon. Les trois ballons sont portés à l'étuve.

Dans les deux ballons ensemencés avec le sang liquide, la culture se fait dans les mêmes conditions que pour le procédé de Courmont, à la seule condition que l'ensemencement soit pratiqué peu de temps (une heure au plus) après le prélèvement. Si l'ensemencement est retardé, il

faut s'attendre à ce que la culture soit également retardée de douze ou vingt-quatre heures.

Dans le ballon-tampon, la culture est souvent plus tardive et demande en moyenne trente-six heures à trois jours. Ce ballon-tampon a surtout pour objet d'accroître les chances de réussite, en augmentant très notablement la quantité de sang ensemencée, dans le cas où les microbes seraient particulièrement peu nombreux.

Ce procédé a l'avantage de demander relativement peu de milieu nutritif; de permettre la culture d'un volume assez considérable de sang; d'être facilement maniable, même lorsqu'on doit faire les prélèvements à quelque distance du laboratoire.

3° *Procédé Conradi-Kayser.* — La bile dissout les globules rouges et empêche la coagulation. Conradi avait tout d'abord préconisé la bile de bœuf, additionnée de 10 p. 100 de glycérine et 10 p. 100 de peptone. On emploie plus généralement la bile seule, suivant la technique indiquée par Kayser : recueillir purement de la bile de bœuf, laisser reposer un ou deux jours, décanter ; répartir par 5 centimètres cubes et stériliser. Dans chaque récipient, ensemencer 1 centimètre cube à 2cc,5 de sang. Mettre à l'étuve. On recommande généralement de pratiquer un étalement sur milieu d'Endo après vingt-quatre heures d'étuve. Mieux vaut opérer comme pour tout autre procédé d'hémoculture; la technique est indiquée plus loin.

Les procédés à la bile sont applicables à peu près exclusivement aux Bacilles typhiques, paratyphiques et coli. Ils ont l'avantage de la simplicité; mais ils ne se prêtent guère à la culture d'autres microbes (Streptocoque, Staphylocoque, Pneumocoque), dont la présence n'est pas sans intérêt, même au cours d'une fièvre typhoïde. Ce sont en réalité des procédés de nécessité, parfois précieux.

Procédé d'Orticoni. — Ensemencer 10 à 15 centimètres cubes de sang dans 100 centimètres cubes d'un bouillon glucosé bilié : glucose, 2, 5 p, 100 ; bile, 2 à 3 centimètres cubes p. 100.

Procédé de L. Martin. — Ensemencer en bouillon « panse-foie » préparé suivant la même technique que la peptone Martin en partant du mélange suivant :

Estomac de porc haché.....	200	grammes.
Foie de bœuf ou de porc.....	200	—
HCl à 16° B.....	20	centimètres cubes.
Eau.....	2000	—

4° *Procédé de B. Lafforgue.* — On rend le sang incoagulable par addition de 0cc,1 de citrate de soude à 20 p. 100 pour 10 centimètres cubes de sang ; on centrifuge ; le culot est ensemencé en bouillon, 50 à 100 centimètres cubes de bouillon pour 10 centimètres cubes de sang. Ce procédé «exclut» le sérum, dont les propriétés bactéricides constituent, on le sait, un sérieux obstacle à la culture.

5° *Procédé de Schottmüller.* — On fait fondre de la gélose, qu'on maintient fondue vers 42°. Au sortir de la veine, le sang est mélangé à son volume de gélose; on coule en boîtes de Petri.

Ce procédé a l'avantage de donner d'emblée des colonies séparées, mais il est un peu délicat pour la pratique courante, et de plus les cultures son généralement tardives.

6° Gildenmeister a proposé d'ensemencer le sang après dissolution dans l'eau distillée; procédé très mauvais.

Variantes. — Dans certains cas (recherche du Gonocoque en particulier), il y a intérêt à faire les cultures sur bouillon-sérum, au lieu de bouillon.

Il est parfois indiqué de chercher les anaérobies ; on pratiquera les ensemencements, de préférence avec le sang défibriné, suivant la technique spéciale aux anaérobies.

C. **Examen des cultures.** — Quelle que soit la méthode employée, il faut ensuite procéder à l'examen des cultures. Ce premier examen sera pratiqué après douze ou vingt-quatre heures; s'il est négatif, on le reprendra après trente-six-heures, quarante-huit heures, etc.

Les cultures en bouillon ou milieux analogues sont les plus favorables pour l'examen. On verra si le milieu, après vingt-quatre heures, est ou n'est pas franchement hémolysé ; le Bacille typhique n'hémolyse jamais ; le Streptocoque hémolyse presque toujours.

Quand le bouillon est trouble, on l'agite d'abord pour répartir uniformément, puis on en prélève une partie pour l'examen. Si le bouillon est clair, il faut prélever tout au fond, dans la couche des globules rouges sédimentés, sans agiter.

Pour les milieux à la bile, agiter avant le prélèvement.

Les prélèvements seront traités comme d'ordinaire. On pratiquera d'abord un examen après coloration simple, par la thionine de préférence ; s'il existe des microbes, on traitera une deuxième préparation par la méthode de Gram; enfin on examinera entre lame et lamelle pour constater si le microbe est ou n'est pas mobile.

D. **Identification des microbes.** — Il faut ensuite identifier les microbes. Dans ce but, on pratique des réensemencements. Deux cas peuvent se présenter.

a. *La morphologie est uniforme.* — Dans tous les cas, d'emblée, même lorsque l'examen décèle des microbes de morphologie uniforme, on fera des isolements sur milieux solides, de manière à obtenir des colonies séparées dès le premier repiquage.

On pratique en même temps des ensemencements sur les divers milieux, variables suivant les indications données par l'examen direct. Nous rappellerons les espèces rencontrées le plus souvent :

Bacilles mobiles ne prenant pas le Gram. — Bacille typhique, Bacilles paratyphiques, Bacille coli.

Bacilles immobiles ne prenant pas le Gram. — Pneumobacille, Bacille pesteux ; exceptionnellement, le Bacille typhique et le Bacille coli peuvent être immobiles dans la première culture.

Cocci prenant le Gram. — Staphylocoque, Streptocoque, Entérocoque, Pneumocoque, Tétragène.

Cocci ne prenant pas le Gram. — Méningocoque, *Micrococcus melitensis*, Gonocoque.

Nous renvoyons à la deuxième partie de ce volume pour l'étude des milieux à mettre en œuvre dans chaque cas particulier, de même que pour les propriétés biologiques (réactions sériques, etc.) et l'action pathogène expérimentale spéciale aux différentes espèces.

Le plus souvent, on aboutit sans hésitation; le microbe trouvé présente l'ensemble des caractères d'une espèce microbienne classée.

Mais il peut arriver qu'on se heurte à quelque anomalie apparente ; les caractères sont hybrides. En pareil cas, il s'agit presque toujours d'une association microbienne. On s'adressera alors aux colonies isolées lors du premier repiquage: on reprendra l'étude en partant de plusieurs colonies bien isolées, quand bien même ces colonies présenteraient toutes la même apparence. En opérant de cette façon, on ne trouvera presque jamais d'espèces très atypiques: il ne faut tout au moins pas oublier cette précaution élémentaire avant d'annoncer la découverte d'espèces nouvelles.

b. *La morphologie n'est pas uniforme.* — Si l'examen direct décèle deux ou plusieurs microbes de morphologie différente, on pratiquera tout d'abord des isolements sur milieux solides. On partira des colonies isolées obtenues par cette première manœuvre pour étudier les caractères de chaque espèce : morphologie, cultures, réactions biologiques, etc.

IV. **Inoculation.** — L'inoculation du sang n'est guère indiquée que pour la recherche du Bacille tuberculeux, ou pour le diagnostic de la spirochétose ictéro-hémorragique. Inoculer le sang défibriné, ou le sang.

Pour rechercher le bacille tuberculeux : recueillir le sang, laisser coaguler, expurger le sérum; laver le caillot pour enlever l'hémoglobine, broyer la masse restante, inoculer au cobaye (Jousset).

Pour la spirochétose ictéro-hémorragique, voy. le chapitre consacré à son agent pathogène.

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DE L'URINE.

A l'état normal, l'urine de la vessie est presque toujours aseptique, mais elle se charge d'un certain nombre de microbes pendant son passage dans l'urètre.

Parmi ces microbes, il faut surtout connaître ceux qui pourraient prêter à confusion.

a. Le *Micrococcus ureæ* (van Tieghem), microbe qui paraît constamment présent dans l'urine et constitue au moins l'un des agents de la fermentation ammoniacale. Il se développe rapidement dans les urines abandonnées à elles-mêmes. Il se présente sous des aspects variés, diplocoques, tétracoques, cocci en chaînettes, parfois strepto-bacilles. Les colonies sur gélatine ont l'apparence de taches de bougie.

b. La *Torula cerevisiæ*, levure assez fréquente chez les diabétiques.

c. Les *Bacilles du smegma*, acido-résistants, qu'il faut éviter de confondre avec le Bacille tuberculeux.

d. Le *Diplococcus reniformis*, morphologiquement analogue au Gonocoque.

e. Le *Colibacille.*

A l'état pathologique, l'urine peut renfermer des microbes très variés.

Dans les lésions localisées (cystites, pyélites, néphrites), on trouve le plus souvent le *Colibacille*, le *Gonocoque*, le *Streptocoque*, le *Staphylocoque*, le *Bacille tuberculeux*, divers *microbes anaérobies* ; plus rarement le *Bacille typhique*, le *Bacille pyocyanique*, le *Pneumocoque*, le *Proteus*, etc.

En outre, *au cours des infections générales*, les microbes pathogènes peuvent être éliminés par l'urine, avec ou sans lésion rénale : *Bacille typhique, Bacilles paratyphiques, Streptocoque, Micr. melitensis* (peut-être même le *Bacille de Koch* ; mais le fait est contesté et en tout cas bien exceptionnel).

Les procédés de recherche sont bien différents suivant qu'on s'adresse au Bacille tuberculeux, au Spirochète ictéro-hémorragique ou aux autres microbes ; nous envisagerons successivement ces diverses éventualités, après avoir indiqué le mode de prélèvement.

Prélèvement. — Dans tous les cas, le prélèvement sera opéré aseptiquement, suivant la technique indiquée au chapitre XIII.

Il peut être indispensable de procéder à l'examen de l'urine d'un seul rein ; il appartient alors au chirurgien de procéder à la récolte de l'urine de l'uretère.

L'urine étant un milieu *très fermentescible* sera soumise à l'analyse aussitôt que possible après l'émission. S'il faut attendre plus d'une heure, on la conservera dans la glace. En ce qui concerne surtout les cultures et inoculations, c'est-à-dire les seuls procédés susceptibles de donner une garantie absolue, on se rappellera que les résultats n'ont aucune signification si les urines n'ont pas été :

1° recueillies aseptiquement ; 2° soumises à l'analyse dans un délai très court après le prélèvement, ou tout au moins conservées à 0° pendant les quelques heures nécessaires au transport. Une urine mal recueillie ou mal conservée donnera à peu près toujours en abondance du Colibacille et du Streptocoque.

Recherche des microbes autres que le Bacille tuberculeux. — On procédera à l'examen direct et aux cultures.

Examen direct. — Deux cas se présentent : l'urine est purulente ou elle ne l'est pas.

a. *Si l'urine est purulente*, il peut suffire de laisser déposer à la glacière dans un verre conique ; il vaut mieux centrifuger et examiner le dépôt.

Lorsque ce dépôt est peu abondant, il arrive parfois que les préparations ne tiennent pas, les sels urinaires précipités par dessiccation se redissolvant dans l'eau ou les réactifs. En pareil cas, après avoir centrifugé, on décante complètement le liquide en ne laissant que le culot, puis on verse dans le tube à centrifuger de l'eau de conduite stérilisée ; on répète deux fois la même opération, et finalement on étale le culot de centrifugation.

Lorsque, sans être purulente, l'urine renferme des flocons ou des filaments, on fera porter l'examen sur ces particules solides.

b. *Si l'urine est claire*, il faut centrifuger avant tout examen et recueillir le dépôt.

Les examens seront pratiqués suivant les procédés habituels :

1° Examen entre lame et lamelle ;

2° Examen après coloration simple, de préférence à la thionine phéniquée ;

3° Examen après coloration par la méthode de Gram.

On n'oubliera jamais d'employer la méthode de Gram, surtout lorsqu'on trouve des diplocoques qui peuvent faire penser au Gonocoque.

Observations. — Il faut noter avec soin la présence ou l'absence *d'éléments figurés anormaux* autres que les microbes (cylindres, cristaux, globules blancs, globules rouges, cellules épithéliales).

L'examen peut être gêné par la présence de *Cristaux*, qui empêchent la mise au point, ou de *glucose*, qui s'oppose à la dessiccation. On fera dissoudre par addition de soude les cristaux d'acide urique (tablettes losangiques). L'addition d'acide acétique permettra de dissoudre les cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien (cristaux en couvercle de cercueil) et d'urate d'ammoniaque (boules épineuses).

Les urines renfermant du sucre seront diluées au préalable dans cinq à dix fois leur volume d'eau distillée.

Cultures. — L'urine renfermant normalement des germes, les

cultures seront toujours faites sur milieux solides, de manière à obtenir d'emblée des colonies isolées.

On emploiera un milieu approprié au microbe cherché : gélose, gélose-sérum, parfois gélatine, ou milieux spéciaux à telle ou telle espèce.

La présence de certaines espèces, Gonocoque, Bacille typhique, Bacille pyocyanique, est toujours un fait pathologique.

La présence du Bacille coli, du Staphylocoque, du Streptocoque, ne revêt une signification pathologique que lorsque ces microbes, très abondants, constituent la presque totalité de la flore urinaire.

Recherche du Bacille tuberculeux. — On s'adresse à l'examen direct ou aux inoculations.

Examen direct. — Les préparations étant étalées comme ci-dessus, on pratiquera les colorations spéciales au Bacille tuberculeux. En raison de la présence des Bacilles du smegma, il est indispensable de décolorer par l'alcool, après avoir décoloré par un acide (méthode de Ziehl-Neelsen) ; le Bacille de Koch reste seul coloré, le Bacille du smegma se décolore. En cas de doute, on aura recours à l'inoculation, seul procédé certain de diagnostic.

Dans l'urine, le Bacille de Koch se présente le plus souvent isolé ou en petits groupes, parfois en amas assez cohérents ; le Bacille du smegma peut d'ailleurs présenter la même disposition.

Inoculation. — On inoculera le culot de centrifugation au cobaye, sous la peau ; l'inoculation dans le péritoine risque de tuer par infection banale. Les suites de l'inoculation seront appréciées comme il a été dit à propos du Bacille tuberculeux.

Recherche du Spirochète ictéro-hémorragique. — Voy. le chapitre consacré à ce microbe.

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DES SELLES.

L'analyse bactériologique des selles est le plus souvent délicate, parce que normalement les selles renferment un nombre considérable de microbes, dont la présence peut être un obstacle à la découverte des germes pathogènes.

Cohendy estime que, chez l'homme adulte, 1 milligramme de fèces montre en moyenne 143 870 000 microbes à l'examen direct et donne en cultures 4 261 660 espèces, dont 77 p. 100 anaérobies.

La flore fécale des *enfants* a été bien étudiée, surtout par Tissier. Chez les nourrissons élevés au sein, c'est le *Bacillus bifidus* qui domine de beaucoup ; il existe en outre le Colibacille et l'Entérocoque. Chez les nourrissons non élevés au sein, la flore est différente ; on trouve en proportions

variables les trois espèces précédentes, plus des Streptocoques, des Staphylocoques, des Sarcines.

Chez l'adulte, les espèces rencontrées sont très nombreuses, variables suivant les individus. La plus répandue est le Colibacille; viennent ensuite le *Bacillus lactis aerogenes*, l'Entérocoque, des Streptocoques, souvent le *Proteus*, et surtout des espèces anaérobies, dont quelques-unes seulement sont connues : *B. bifidus*, *B. perfringens*, *B. funduliformis*, etc.

En pratique, on est amené à pratiquer l'analyse des fèces dans deux circonstances bien différentes. Tantôt on procède à cette analyse sans idée préconçue, pour définir la flore microbienne et constater si elle présente ou non quelque anomalie : on s'adresse alors aux *méthodes générales*. Le plus souvent, au contraire, on veut chercher un microbe pathogène déterminé : il faut alors utiliser les *méthodes spéciales*.

Méthodes générales. — Les méthodes générales sont basées sur l'examen direct et sur les cultures. On ne peut rien attendre de l'inoculation des fèces aux animaux, car ces derniers succombent à l'infection par les microbes normaux de l'intestin.

Pour l'examen direct comme pour les cultures, on diluera les selles dans l'eau stérile, de manière à obtenir une émulsion légèrement trouble et parfaitement homogène.

S'il existe du mucus, des flocons, ou d'autres produits anormaux, on les examinera séparément.

Examen direct. — On pratiquera successivement :

a. Un examen à l'état frais;

b. Un examen après coloration simple;

c. Un examen après coloration au Gram.

Ces examens permettront d'apprécier les propriétés morphologiques des espèces les plus abondantes. Normalement, les trois quarts environ des microbes des selles ne prennent pas le Gram.

Cultures. — Il faut opérer un isolement rigoureux, tout en appliquant des méthodes susceptibles de donner le plus de chances de succès. Trois procédés au moins seront mis en œuvre.

a. On ensemencera par *dilutions successives sur plaques de gélatine*. — Ce procédé, généralement insuffisant en raison de la liquéfaction rapide produite par les espèces banales, rendra parfois de grands services, spécialement pour la recherche des *Proteus* et du Bacille pyocyanique.

b. Un autre ensemencement sera pratiqué *sur plaques de gélose, en surface* : étaler une goutte de dilution, de mucus, etc., sur la gélose, répartie en grandes boîtes de Petri, à l'aide d'un répartiteur; sans recharger l'instrument, ensemencer de même une deuxième, puis

une troisième boîte. — Par ce procédé, on isolera la plupart des germes aérobies : Colibacille, Entérocoque, Streptocoque.

c. Les procédés précédents ne visent que les microbes aérobies. Il est nécessaire, en outre, de rechercher les *microbes anaérobies*. Dans ce but, on pratiquera des dilutions en gélose sucrée profonde, suivant la technique de Veillon.

Interprétation des résultats. — L'examen direct, et surtout les cultures, peuvent dénoncer la prédominance d'une espèce normalement absente ou peu commune, ou la présence d'une espèce pathogène. Il est évident que la constatation du Vibrion cholérique, du Bacille dysentérique, du Bacille typhique, revêt toujours un caractère pathologique. Pour la plupart des autres espèces, y compris le Bacille pyocyanique, le *Proteus*, l'Entérocoque, le Streptocoque, les anaérobies, et à plus forte raison le Colibacille, les conclusions seront beaucoup plus réservées ; on ne peut les considérer comme réellement pathogènes qu'en se basant sur les circonstances cliniques et étiologiques, et éventuellement sur l'action spécifique du sérum sanguin à leur égard.

Méthodes spéciales. — Elles ont été étudiées plus haut. Voir en particulier *Bacilles typhique, paratyphique, dysentérique, Vibrion cholérique, Amibe dysentérique.*

CHAPITRE LXXX

ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES APPLIQUÉES A L'HYGIÈNE

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DES EAUX.

L'analyse bactériologique des eaux constitue l'une des plus importantes et des plus délicates des applications de la bactériologie à l'hygiène.

Nous dirons quelques mots du prélèvement et du transport des échantillons avant d'exposer l'analyse bactériologique.

Opérations préliminaires. — Prélèvement; transport; renseignements. — L'analyse doit porter sur l'eau telle qu'elle est réellement constituée, sans que les manœuvres nécessaires pour le prélèvement et pour le transport amènent des modifications d'aucune sorte, par suite de contaminations accidentelles.

Tout le matériel nécessaire pour les prélèvements et le transport doit être fourni, sur demande, par les laboratoires de bactériologie

1. *Prélèvement des échantillons.* — **Prélèvement à une canalisation.** — On prépare des récipients convenables.

Des bouteilles à goulot étroit, de 125 à 250 centimètres cubes, conviennent parfaitement. Le flacon est lavé soigneusement à plusieurs reprises, séché, bouché à la ouate, entouré de papier et stérilisé au four Pasteur; on stérilise en même temps un bouchon, entouré de papier. Après stérilisation, le tout est placé dans un étui métallique.

Au moment voulu, faire couler l'eau pendant quelques minutes, pour vider les conduites où elle a pu demeurer stagnante. Déboucher ensuite le flacon, sans toucher à son orifice; flamber rapidement l'orifice, laisser refroidir, remplir jusque près de la racine du col. Saisir le bouchon de liège par son extrémité large, obturer l'orifice. Couvrir le bouchon de cire à cacheter, pour assurer l'étanchéité. On place enfin sur le flacon une étiquette, indiquant la provenance de l'échantillon, son numéro et le jour du prélèvement.

Il est préférable de prélever deux flacons différents pour chaque échantillon.

Prélèvement dans une rivière. — Il faut éviter de recueillir la vase du fond, la terre du bord et les poussières de la surface.

On utilisera le même flacon que ci-dessus ; le saisir avec une longue pince à mors coudés, plonger en plein courant un peu au-dessous de la surface. Si la pince est trop courte, amarrer le flacon sur une perche.

Prélèvement dans les réservoirs profonds ou les puits. — Quand il s'agit d'ouvrages récents, il faut tout d'abord se débarrasser des débris de maçonnerie et des détritus divers en laissant se remplir et épuisant plusieurs fois de suite le puits ou le réservoir.

Le prélèvement peut être opéré comme ci-dessous (Voy. *Prélèvement en profondeur*). Il suffit, en pratique, de fixer le flacon par son goulot à une corde stérilisée, de longueur convenable : le descendre débouché, laisser remplir, remonter, et opérer ensuite comme plus haut.

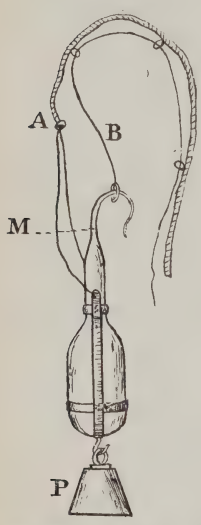


Fig. 362. — Appareil de Miquel pour prélever les eaux en profondeur.

Prélèvement en profondeur. — *a.* Pour des profondeurs modérées (2 à 8 mètres environ), on peut se contenter d'un dispositif très simple : amarrer le flacon, muni de son bouchon, à l'extrémité d'une perche : passer à travers la partie libre du bouchon l'extrémité d'un long fil métal. — lique. Faire plonger la perche ; une fois arrivé à la profondeur voulue, tirer le fil d'un coup sec ; le bouchon saute et le flacon se remplit.

b. Quand la profondeur est plus grande, il est préférable de s'adresser à des appareils spéciaux. Les modèles sont nombreux. Citons celui de Miquel (fig. 362). On effile et coude l'extrémité M d'un matras d'essayeur, on flambe fortement tout l'appareil, et on ferme l'extrémité libre avant refroidissement; il se fait ainsi un vide partiel. Le matras est fixé dans un encadrement métallique portant un poids en plomb P à sa partie inférieure ; une corde A soutient l'ensemble, pendant qu'un fil métallique B est passé en collier autour du coude du matras. Pour l'usage : faire plonger en tenant par la corde; à la profondeur voulue, casser l'effilure en tirant sur le fil.

II. ***Transport.*** — Quand la chose est possible, il vaut mieux faire les ensemencements sur place. Dans la pratique, on est presque toujours obligé d'expédier les échantillons à un laboratoire. A la condition d'être bien compris, ce transport n'a d'ailleurs pas d'inconvénient sérieux.

Le transport doit être exécuté le plus rapidement possible, à basse température.

Il est démontré qu'aux environs de 0° la composition bactérienne de l'eau demeure à peu près stationnaire, au moins pendant le laps de temps habituellement nécessaire pour les transports les plus éloignés. Au contraire, à la température ambiante, les germes pul-

lulent avec une très grande rapidité. Ainsi, Miquel trouve dans l'eau de la Vanne 48 microbes par centimètre cube sitôt après le prélèvement; 38 000 après séjour de vingt-quatre heures sur la table du laboratoire; 125 000 après deux jours.

Lorsqu'un échantillon d'eau arrive au laboratoire à une température élevée, supérieure à 8°, *les résultats de l'analyse ont donc toutes chances d'être faussés*, par suite de la multiplication accidentelle des germes.

En pratique, on opère généralement ainsi : on remplit à moitié de sciure de bois, S, des caisses en bois, carrées (fig. 363); on place au milieu les échantillons, enveloppés de leur étui; on entoure les étuis de glace, G, en gros morceaux (8 à 15 kilogrammes en moyenne); la caisse est enfin remplie complètement de sciure de bois. Expédier par les voies les plus rapides, avec une étiquette très apparente : *Échantillon d'eau destiné à l'analyse bactériologique.*

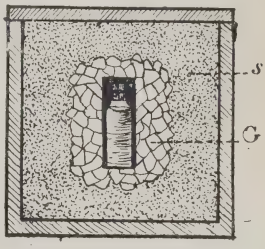


Fig. 363. — Dispositif pour le transport des échantillons d'eaux.

III. ***Renseignements.*** — A tout envoi d'échantillon sera jointe une *feuille de renseignements* ; on y consignera exactement et en détail toutes les observations épidémiologiques ou autres qui peuvent intéresser l'expertise. Nous conseillons de suivre le questionnaire ci-dessous, rédigé pour les expertises de l'armée :

(Lieu et date du prélèvement.)
le 19

Feuilles de renseigenments

pour l'analyse bactériologique de l'eau de

Le médecin chargé de prélever les échantillons *doit répondre de la manière la plus précise à toutes les questions ci-après* :

1° Autorité qui a prescrit l'analyse ;

2° Localité ou établissement alimentés par l'eau ;

3° Jour et heure du prélèvement ;

4° Causes qui motivent l'analyse : épidémie de , source à capter, appréciation de l'eau de boisson, etc ;

5° Origine de l'eau : source, émergence ou résurgence, puits, forage, rivière, lac, citerne, réservoir, eau de drainage, galerie filtrante ;

6° Point où l'échantillon a été prélevé. S'il s'agit d'une rivière, d'un puits, d'un lac, d'un réservoir, d'une citerne, indiquer la profondeur à laquelle l'eau a été puisée;

7° Faire connaître s'il existe des dépôts vaseux dans le puits, la citerne ou le réservoir ;

8° Influence des pluies, des fontes de neige ou de la sécheresse sur la

limpidité de l'eau, sur son niveau et son débit habituels. Oscillations thermiques de l'eau, en été et en hiver;

9° Existe-t-il un périmètre de protection de la source ou du puits et quelle est son étendue?

10° Le terrain avoisinant a-t-il des fissures ou des effrondrements? Quelle est sa nature? L'épreuve de la fluorescéine a-t-elle été faite?

11° Autres causes de souillure permanentes ou accidentelles de l'eau ; habitations, fosses fixes, fumiers, étables, lavoirs, abreuvoirs, égouts, cimetières, usines, etc. ;

12° Mode d'épuration auquel l'eau est soumise ;

13° Usage de l'eau : boisson, cuisines, lavabo, abreuvage des chevaux ;

14° Température ambiante au moment du prélèvement ;

Température de l'eau au même moment ;

15° Observations diverses.

Principes généraux de l'analyse bactériologique des eaux.

1° Sauf quelques exceptions (eau de sources profondes bien filtrées), les eaux renferment toujours des microbes ; elles les empruntent au sol qu'elles traversent, aux surfaces qu'elles lavent, aux poussières, etc. Le nombre des microbes contenus dans les eaux est, d'ailleurs, extrêmement variable, suivant une infinité de circonstances; mais il est établi que les eaux impures sont très riches en microbes, tandis que les eaux pures en renferment généralement beaucoup moins. Aussi la simple *numération* constitue-t-elle un premier procédé d'appréciation.

2° Toutefois, la numération ne suffit pas à elle seule pour apprécier le degré de pureté des eaux ; il est possible que parmi les microbes contenus dans une eau, et quelle que soit leur abondance, se trouvent des espèces pathogènes, spécialement le Bacille typhique et le Vibrion cholérique, agents de maladies ordinairement véhiculées par les eaux. Il faut donc chercher ces microbes : la *recherche des microbes pathogènes* constitue un deuxième procédé d'appréciation.

3° Mais il est avéré que la recherche du Bacille typhique dans les eaux est très dificile, pour ne pas dire illusoire, car les divers procédés d'isolement aboutissent à peu près uniquement à la découverte du Colibacille, à l'exclusion du Bacille typhique, même dans les eaux notoirement typhogènes. D'autre part, il ne suffirait pas de constater la présence ou l'absence du Bacille typhique ou du Vibrion cholérique ; il faut, en outre, s'assurer si l'eau est exposée à se trouver contaminée par ces microbes. Or, ces deux germes proviennent des excreta ou des cadavres ; on conçoit, par suite, difficilement qu'ils puissent passer dans les eaux sans être accompagnés des microbes constamment présents dans les excreta et les cadavres ; ces microbes constituent, en quelque sorte, leurs satel-

lites obligés. Parmi eux, et pour des raisons techniques, c'est encore le Colibacille qu'il est le plus facile de prendre comme témoin.

Toutefois, on n'est pas fixé sur la signification exacte du Colibacille dans les eaux. Il y est très fréquent, mais non constant. Depuis quelques années, à la suite de H. Vincent et de Petruschky et Pusch, on admet en général qu'il faut non seulement constater la présence du Colibacille, mais encore préciser son abondance ; la *colimétrie* constituera ainsi un troisième procédé d'appréciation.

4° Pour les mêmes raisons que nous venons d'exposer en 3°, on doit attacher une grande importance à la présence ou à l'absence d'autres *espèces de l'intestin ou de la putréfaction*, spécialement les microbes du groupe *Proteus*, les Spirilles, l'Entérocoque, d'autres espèces encore que nous signalerons plus loin, éventuellement aussi les thermophiles et les anaérobies.

5° D'après les considérations précédentes, l'analyse d'une eau comporte essentiellement :

I. La détermination du nombre des microbes : c'est l'*analyse quantitative* ;

II. La détermination de la nature des microbes : c'est l'*analyse qualitative*.

L'analyse qualitative comportera :

A. L'identification des colonies sur les milieux employés pour la numération ;

B. La recherche et le dénombrement du Colibacille ;

C. La recherche des espèces pathogènes ;

D. Eventuellement, d'autres procédés d'usage moins général.

I. — Analyse quantitative. — Numération des germes.

Procédé de choix. — *Ensemencement sur plaques de gélatine.* — On peut utiliser la gélatine ordinaire (chap. VII) ou plus simplement le milieu suivant, qui donne dans le cas particulier les mêmes résultats :

Gélatine extra.....	120 à 200 gr.,	suivant la saison.
Peptone.....	20 grammes.	
Sel marin.....	5	—
Eau.....	1 000	—

Alcaliniser légèrement, répartir en tubes de 10 centimètres cubes, stériliser.

Pour les eaux potables, on ensemencera trois tubes au moins, respectivement avec un cinquantième, un vingt-cinquième et un dixième de centimètre cube de l'eau à analyser, soit 1 goutte,

II gouttes et V gouttes d'une pipette stérilisée donnant L gouttes par centimètre cube. On met à fondre trois tubes de gélatine, en veillant à ce que leur température ne dépasse pas 40° au moment de l'ensemencement ; répartir dans chacun d'eux la quantité voulue d'eau à analyser, mélanger très exactement, couler en boîtes de Petri ou en fioles de Gayon. Les plaques sont refroidies rapidement sur platine refroidissante ou simplement sur papier buvard humecté d'eau froide ; on les porte ensuite à 18° ou 22°.

Si l'on avait des raisons de croire que l'eau est extrêmement riche en germes, on pratiquerait en outre une autre numération avec 1/50, 1/25 et 1/10 de centimètre cube d'eau diluée au dixième et au centième. En pratique, les eaux qui nécessiteraient de telles dilutions sont tellement chargées de germes que cette seule indication suffit à les faire considérer comme mauvaises.

Les colonies commencent à apparaître nettement dès le deuxième jour. Il s'en développe de nouvelles jusqu'au quinzième jour environ. A ce moment, la numération sera faite exactement.

Mais il arrive assez souvent que les plaques ne sont pas utilisables jusqu'au quinzième jour; certaines colonies, en effet, *liquéfient* la gélatine, et lorsque ces colonies liquéfiantes sont nombreuses ou très envahissantes, la plus grande partie de la plaque se trouve liquéfiée. Aussi faut-il surveiller les cultures *tous les jours* et pratiquer la numération dès qu'on prévoit que la liquéfaction serait très avancée vingt-quatre heures après.

S'il existe des espèces liquéfiantes, il est nécessaire de percevoir l'*odeur* de la culture ; certaines espèces dégagent, en effet, une odeur putride ou ammoniacale.

Numération des colonies. — Quand les colonies sont peu nombreuses, on les compte une à une sur toute la plaque, après avoir divisé cette dernière en secteurs égaux, par des traits à l'encre ou au crayon gras.

Si les colonies sont très nombreuses, on se contente de compter les colonies de deux secteurs, choisis de telle manière que leur richesse microbienne représente sensiblement la moyenne de l'ensemble de la plaque. On fait la moyenne des deux numérations, et on multiplie le chiffre trouvé par le nombre des secteurs. On rapporte enfin la numération *au centimètre cube*, toujours pris comme unité.

Si, par exemple, on trouve vingt colonies sur la plaque ensemencée avec un cinquantième de centimètre cube, le nombre des microbes est : $20 \times 50 = 1000$ par centimètre cube.

La même numération est répétée pour toutes les plaques.

On donne comme chiffre définitif le chiffre moyen des trois plaques.

Si, par exemple, on trouve, par centimètre cube, respectivement 1 000, 1 100 et 1 200 germes par centimètre cube dans chacune des boîtes, le chiffre définitif sera $\frac{1000 + 1100 + 1200}{3} = 1100$.

Le chiffre ainsi obtenu représente le *nombre réel* des colonies quand la numération a pu être effectuée au quinzième jour.

Mais nous avons vu que la liquéfaction oblige parfois à pratiquer la numération avant le quinzième jour ; en pareil cas, le chiffre obtenu est *inférieur* à la réalité. On peut alors exprimer le résultat de deux manières différentes :

a. Ou bien faire ressortir que le chiffre donné n'est pas réel par la formule suivante : *Le nombre des bactéries par centimètre cube est de N ; mais la numération ayant été interrompue par la liquéfaction de la gélatine au neuvième jour, ce chiffre est inférieur à la réalité d'environ x p. 100.* On déterminera ce chiffre *x* d'après les indications ci-dessous ;

b. Ou bien substituer au chiffre trouvé le neuvième jour le chiffre de germes qui seraient apparus jusqu'au quinzième jour, si la plaque avait pu être suivie jusque-là.

Il va sans dire qu'une pareille détermination demeure un peu hypothétique; elle est faite par comparaison avec les résultats moyens d'un très grand nombre d'analyses. On utilisera l'une ou l'autre des estimations portées sur le tableau ci-dessous :

	D'après Rossi, sur 100 germes ne sont pas apparus :	D'après H. Vincent, on multipliera le chiffre trouvé en cultures à 16°-18° par :	D'après Miquel, on multipliera le chiffre trouvé en cultures à 20° par :
	—	—	—
Au 1er jour.....	99	»	50
Au 2e —	85	19,6	7,353
Au 3e —	76	8,82	3,937
Au 4e —	65	5,61	2,584
Au 5e —	53	3,86	1,887
Au 6e —	40	3,05	1,570
Au 7e —	30	2,40	1,379
Au 8e —	21	1,82	1,282
Au 9e —	14	1,52	1,224
Au 10e —	9	1,33	1,164
Au 11e —	4	1,19	1,121
Au 12e —	3	1,10	1,086
Au 13e —	2	1,06	1,052
Au 14e —	0	1,04	1,024
Au 15e —	0	1	1

Il se développe souvent, en même temps que les bactéries, un certain nombre de *moisissures*; elles seront comptées à part.

Variantes. — Bonjean ensemence sur gélatine neuf plaques par échantillon, dont trois avec l'eau pure, trois avec l'eau diluée au dixième, trois avec l'eau diluée au centième; pour chacune d'elles, on ensemence respectivement 0cc,25, 0cc,50 et 1 centimètre cube.

Miquel emploie actuellement une technique très analogue : ensemencement sur gélatine d'eau pure, d'eau diluée au cinquantième, au millième, au cent-millième, etc.

Ensemencement sur gélose ou sur gélose-gélatine. — Le développement des germes sur gélatine à basse température étant un peu lent, on a essayé de substituer à la gélatine la gélose ou la gélatine additionnée de gélose (gélose-gélatine). De tels milieux peuvent être portés à 37°; la culture est pratiquement terminée du troisième au cinquième jour, car il ne se développe plus guère de colonies dans la suite. Mais le nombre de germes trouvés par ces procédés est inférieur, parfois énormément inférieur à celui qu'on trouve par ensemencement sur gélatine ; de plus, les colonies ne présentent pas les caractères différentiels (liquéfaction, pouvoir chromogène, figuration) si utiles des cultures en gélatine. Aussi l'emploi de la gélose et de la gélose-gélatine est-il à peu près universellement abandonné.

II. — Analyse qualitative.

A. **Identification des germes.** — Les colonies obtenues sur gélatine seront identifiées suivant les procédés habituels. On constatera la forme des microbes, leur mobilité, leurs réactions colorantes (coloration simple et au Gram) ; on appréciera exactement les caractères des colonies sur gélatine : forme, dimensions, coloration, opacité ou transparence, liquéfaction ou ramollissement, etc. Avec un peu d'exercice, ces renseignements sommaires suffisent pour cataloguer les espèces les plus fréquentes; mais, au début, il est utile de pratiquer des repiquages sur les divers milieux. En pratique, il suffit d'identifier les espèces dominantes pour chaque échantillon.

Il est surtout indiqué de constater s'il existe des colonies liquéfiantes et dégageant une odeur putride ou ammoniacale, ou d'autres microbes appartenant à la flore habituelle de la putréfaction.

On trouvera à la fin de ce chapitre un tableau faisant connaître les caractères essentiels des microbes rencontrés le plus souvent.

B. **Recherche et numération du Colibacille.** — Nous avons dit déjà quel intérêt s'attache à la recherche du Colibacille. Les procédés employés dans ce but sont très nombreux. Nous indiquerons

en détail celui de H. Vincent et ferons connaître ensuite quelques autres procédés assez répandus.

Procédé de H. Vincent. — *Culture en milieu phéniqué à 41°,5.* — En milieu phéniqué, à température relativement élevée, le Colibacille se développe mieux et plus vite que les autres germes.

1° On ensemence l'eau à doses croissantes.

a. Dans cinq tubes, on verse 10 centimètres cubes d'eau peptonée à 1 p. 100 et salée à 0,5 p. 100; à chacun des tubes on ajoute l'eau en expertise à dose respective de 0cc,05, 0cc,10, 0cc,25, 0cc,50 et 1 centimètre cube.

b. Dans deux autres tubes renfermant 20 centimètres cubes d'eau peptonée salée, on ensemence respectivement 2 centimètres cubes et 5 centimètres cubes.

c. Dans cinq ballons, on verse l'eau à analyser à dose de 10 centimètres cubes, 20 centimètres cubes, 50 centimètres cubes, 100 centimètres cubes et 200 centimètres cubes. On ajoute à chaque ballon la solution suivante, stérilisée, mais non filtrée :

Peptone	50	grammes.
Sel marin	25	—
Eau	100	—

à dose telle que la culture renferme 1 p. 100 de peptone; par exemple, 2 centimètres cubes de la solution pour 100 centimètres cubes d'eau à analyser.

2° A chaque tube ou ballon, on ajoute de l'acide phénique, en proportion de 0,85 p. 1 000.

On obtient très simplement cette proportion en ajoutant, pour 2 centimètres cubes du mélange, 1 goutte au trentième de solution phéniquée à 5 p. 100.

3° Après avoir mélangé bien exactement, on porte à l'étuve à 41°,5. Au bout de quatorze à seize heures, on examine les cultures.

Si le *B. coli* s'est développé, il existe un trouble net et uniforme. Quelques microbes peuvent se développer dans le même temps, mais sous un autre aspect : trouble léger (Streptocoque court, Bacille immobile liquéfiant la gélatine), trouble léger avec voile (*Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*).

On réensemence alors à nouveau le liquide trouble en bouillon phéniqué ; au besoin, on procède à un troisième passage. Au bout de quatre à cinq heures, même si la culture du deuxième ou troisième passage est demeurée limpide, on la repique sur bouillon simple, bouillon lactosé carbonaté, bouillon au rouge neutre, lait tournesolé.

La culture en bouillon simple apparaît dès quatre à cinq heures ; on la réensemence sur pomme de terre, agar et gélatine.

On complète enfin l'identification du microbe par l'examen microscopique (forme, coloration, réaction au Gram, mobilité, cils) et par la recherche de l'indol.

4° Ce procédé permet de dénombrer facilement le Colibacille. Si, par exemple, on trouve du Colibacille dans les récipients ensemencés avec 0cc,5 et plus, sans en trouver dans les tubes ensemencés avec moins de 0cc,5, on conclut que l'eau renferme 2000 Colibacilles par litre.

Procédé d'Eijkmann. — Ce procédé est basé sur deux propriétés différentes : d'une part, comme l'a montré Rodet, le Colibacille végète à haute température ; d'autre part, il fermente la glucose.

Le milieu d'Eijkmann comporte, p. 100, 10 grammes de peptone, 10 grammes de glucose et 5 grammes de sel marin.

On ensemence l'eau dans la solution précédente, à raison de 100 centimètres cubes d'eau pour 15 centimètres cubes de solution. On porte à 46°. Au bout de vingt-quatre heures, s'il existe du Colibacille, le milieu donne des gaz. On réensemence alors sur milieux d'isolement.

Ce procédé paraît infidèle. Quoi qu'en pense Eijkman, il ne paraît pas démontré que tous les Colibacilles provenant de l'organisme d'animaux à sang chaud fermentent la glucose à 46°.

Procédé de Savage. — Basé sur la réduction du rouge neutre.

A 1000 centimètres cubes de bouillon, on ajoute :

Peptone Defresne	20 grammes.
Sel marin.....	20 —
Glucose.....	5 —

Puis 5 centimètres cubes de rouge neutre à 5 p. 100.

On ensemence et porte à 37° ; s'il existe du Colibacille, après vingt-quatre heures, le milieu est fluorescent et jaune verdâtre.

La valeur du procédé est discutée. Braun et J. Courmont le recommandent. D'après Sicre, H. Vincent, Rochaix et Dufourt, un certain nombre de microbes autres que le Colibacille provoquent la même réaction : Bacille paratyphique B, Bacille fluorescent putride, Bacille pyocyanique, uro-bactéries ; mais la présence de ces bactéries n'est guère moins suspecte que celle du Colibacille. Certains Colibacilles ne donnent pas la réaction dans les conditions indiquées.

Procédé de Lacomme. — Lacomme combine les procédés d'Eijkman et de Savage. On ensemence sur milieu d'Eijkman, additionné au moment de l'emploi de XII gouttes (au 20e de centimètre cube) de solution de rouge neutre par tube de 15 centimètres cubes. Chaque tube est ensemencé avec 100 centimètres cubes d'eau. On porte à 45°-46°.

On obtient en vingt-quatre heures la réaction caractéristique : fluorescence, production de gaz.

Procédé de Grysez et Pierret. — On ensemence l'eau en bile glucosée, en dilution moyenne de 10 grammes de bile et 0gr,5 de glucose pour 100 grammes du mélange (milieu + eau à analyser). Le Colibacille trouble et fait fermenter après quarante-huit heures à 37°.

Technique. — Préparer les trois mélanges suivants :

A. Bile, 11 c.c. ; glucose, 0gr,55 ; eau, 89 c.c.
B. Bile, 15 c.c. ; glucose, 0gr,75 ; eau, 85 c.c.
C. Bile, 20 c.c. ; glucose, 1 gr. ; eau, 80 c.c.

Ensemencement de l'eau :

Ensemencer	1 c.c.	d'eau dans	10 c.c. du	milieu A ;
—	5 c.c.	—	—	B ;
—	10 c.c.	—	—	C.

Porter quarante-huit heures à 37°. Les tubes troublés et fermentés sont réensemencés en milieu de Barsiekow lactosé, en bouillon au rouge neutre lactosé, en eau peptonée. Examiner après vingt-quatre heures d'étuve à 37°.

Sont considérés comme renfermant un colibacille type, les tubes qui à la fois donnent de l'indol, rougissent et coagulent le Barsiekow, virent et fermentent le rouge neutre lactosé.

C. **Recherche des microbes pathogènes.** — Voy. *Recherche du Bacille typhique ; Recherche du Bacille dysentérique ; Recherche du Vibrion cholérique.*

D. **Autres procédés. — Recherche des anaérobies.** — H. Vincent préconise la recherche des anaérobies ; ces microbes font en effet partie de la flore intestinale et des produits de putréfaction : leur présence dans les eaux peut servir à indiquer une contamination accidentelle.

Les eaux pures ne renferment pas d'anaérobies stricts, alors qu'on peut en rencontrer 50 et plus par centimètre cube dans les eaux souillées. La recherche des anaérobies est surtout indiquée pour les eaux de puits, citernes et rivières.

On emploie le tube de Vignal (Chap. XI) : l'eau à analyser est ensemencée à la dose de 1/10 à 1 centimètre cube dans le milieu suivant :

Gélatine	100 à 200 grammes.
Glucose	10 —
Chlorure de sodium	5 —
Glycérine	5 —
Eau	1 000 —

Additionner de sulfo-indigotate de soude au moment de l'emploi.

Sont seules comptées comme anaérobies strictes les colonies floconneuses ou faiblement granuleuses.

Recherche des bactéries thermophiles. — Elle a été proposée par H. Vincent : les thermophiles font partie de la flore intestinale habituelle.

L'eau est ensemencée en bouillon, et la culture est portée quarante-huit heures à 56°. Seuls les thermophiles se développent à cette température.

Expérimentation physiologique. — Sous ce nom, Bonjean recommande l'inoculation à l'animal d'une culture globale de l'eau.

On ensemence en bouillon 10 centimètres cubes d'eau ; après quatre jours d'incubation à 35°, la culture obtenue est inoculée à dose de 0cc,3 dans le péritoine du cobaye. On suit attentivement l'animal : la température est prise d'abord d'heure en heure, puis matin et soir. Les grands écarts de température, la formation d'abcès, etc., indiquent d'ordinaire la présence de bactéries virulentes, qui tuent l'animal. A l'autopsie, on ensemence le sang et les organes.

Ce procédé décèle des microbes virulents : Colibacille, Bacille pyocyanique, *Bacillus anthracis*, Staphylocoque, Tétragène, etc.

III. — Interprétation des résultats.

Dans l'interprétation des résultats de l'analyse bactériologique, il faut tenir compte des diverses évaluations fournies par les recherches quantitatives et qualitatives.

L'analyse quantitative a longtemps été employée à peu près seule pour l'appréciation des eaux potables.

Il est bon de connaître les estimations établies par Miquel :

0 à 10	germes par centimètre cube..		Eau excessivement pure.
10 à 100	—	— ..	— très pure.
100 à 1 000	—	— ..	— pure.
1 000 à 10 000	—	— ..	— médiocre.
10 000 à 100 000	—	— ..	— impure.
100 000 et au delà	—	— ..	— très impure.

Sans être prises à la lettre, ces estimations sont encore utilisables actuellement.

Mais il est indispensable de joindre aux résultats de la numération ceux de l'analyse qualitative ; nous avons exposé plus haut pourquoi. Actuellement, cette analyse qualitative se base, en grande partie, pour les expertises courantes, sur la recherche du Bacille coli et des bactéries de la putréfaction.

En ce qui concerne le Bacille coli, H. Vincent propose les estimations suivantes :

10 000 à 50 000	Bacilles coli par litre	—	Eau profondément souillée par les matières fécales; dangereuse pour la boisson (eau d'égout, eaux de rivière).
1 000 à 10 000	—	—	. — Eau mauvaise ou très mauvaise, impropre à la boisson (eau de rivière, de puits contaminés, etc.).
100 à 1 000	—	—	. — Eau suspecte, tantôt en période d'infection légère, tantôt au début ou au déclin d'une contamination plus grande.
50 à 100	—	—	. — Eau passable ou médiocre. A surveiller.
10 à 50	—	—	. — Eau d'assez bonne ou de bonne qualité.
0	—	—	. — Eau pure ou très pure.

L'interprétation des résultats peut être, suivant les cas, très simple ou très délicate. Elle est très simple, quand l'eau est franchement bonne ou franchement mauvaise :

Une eau qui renferme moins de 1 000 germes par centimètre cube et moins de 50 Colibacilles par litre est *bonne*.

Une eau qui renferme plus de 10 000 germes par centimètre cube, avec plus de 1 000 Colibacilles par litre est *mauvaise*.

L'interprétation est aussi assez facile quand les chiffres trouvés pour la numération globale et pour la numération du Colibacille sont à peu près parallèles. Si l'on trouve, par exemple, 2 000 germes par centimètre cube avec 200 Colibacilles par litre, on conclura que l'eau *doit être surveillée*, car elle est susceptible d'être sérieusement contaminée d'un moment à l'autre.

Certains résultats sont plus embarrassants ; on peut trouver beaucoup de Colibacilles et peu de microbes, ou inversement.

En pareil cas, on apportera la plus grande attention à la présence et au nombre des bactéries ordinairement véhiculées avec les matières fécales, spécialement les diverses bactéries de la putréfaction ; leur présence ou leur absence pourra orienter le jugement dans un sens ou dans l'autre.

On n'oubliera jamais que les résultats trouvés et l'interprétation qui en résulte sont valables *exclusivement pour l'échantillon soumis à l'examen* ; ils n'entraînent aucune conclusion sur la valeur de la même eau à d'autres époques et en d'autres circonstances.

L'appréciation définitive ne peut être basée que sur plusieurs analyses faites aux diverses saisons et dans des circonstances météoriques différentes, toutes les autres conditions restant les mêmes.

IV. — Flore bactérienne des eaux.

A. Espèces à signification spéciale :

1° Espèces pathogènes, agents de maladies transmissibles par l'eau :

Bacille typhique.	Vibrion cholérique.
Bacille paratyphique B.	Bacille dysentérique.

2° Autres espèces habituellement pathogènes :

Staphylocoque doré.	Bacille du charbon.	Bacille tuberculeux.
Staphylocoque citrin.	Bacille du tétanos.	Bacille diphtérique.
Streptocoque.	Vibrion septique.	Pneumobacille.

3° Espèces accidentellement pathogènes (habituellement saprophytes) :

Staphylocoque blanc.	Colibacille.
Entérocoque.	*Proteus vulgaris.*
Bacille pyocyanique.	*Proteus mirabilis.*
Bacillus fœcalis alcaligenes.	

4° Espèces indiquant généralement une contamination des eaux (microbes d'origine intestinale ou microbes de la putréfaction). — Il faut citer d'abord certaines espèces qui proviennent souvent ou habituellement de l'intestin :

a. Les agents des maladies transmissibles par l'eau (Voy. ci-dessus) :
Le Colibacille ;
L'Entérocoque.

b. En outre, certaines espèces habituelles des putréfactions :

Proteus vulgaris.
Proteus mirabilis.
Bacillus fluorescens liquefaciens.
Bacillus fluorescens putridus.
Bacillus fluorescens non liquefaciens.
Bacillus cloacæ.
Spirillum tenue.
Spirillum undula.
Spirillum serpens.

c. Enfin espèces qui ne se rencontrent guère que dans les eaux impures :

Micrococcus prodigiosus. *Bacillus janthinus.* *Bacillus violaceus.*

B. **Espèces rencontrées le plus communément dans les eaux, par ensemencements sur plaques de gélatine.** — Ces espèces sont nombreuses ; beaucoup d'entre elles sont encore incomplètement étudiées. Nous les étudierons sous forme de tableau, dans l'ordre suivant :

I. *Espèces non chromogènes, ne liquéfiant pas la gélatine* en dix à quinze jours, à la température ambiante ;

II. *Espèces non chromogènes, liquéfiant la gélatine ;*

III. *Espèces chromogènes, ne liquéfiant pas la gélatine ;*

IV. *Espèces chromogènes, liquéfiant la gélatine.*

Rappelons que l'on considère comme non chromogènes les microbes donnant des colonies blanches ou incolores.

Les espèces liquéfiant lentement ou tardivement (d'ordinaire ou toujours après le quinzième jour) sont classées parmi les espèces non liquéfiantes.

Pour chaque espèce, nous donnerons l'aspect ordinaire en cultures sur plaques de gélatine : sauf indication contraire, l'aspect décrit est celui des colonies superficielles. Les colonies profondes sont souvent beaucoup moins différenciées. La description correspond au stade de développement maximum.

Abréviations. — *G* +, prend le Gram ; *G* —, ne prend pas le Gram ;
m., mobile ; *im.*, immobile ;
mm., millimètres ;
liq. t. r., liquéfaction très rapide (premier ou deuxième jour) ;
liq. r., liquéfaction rapide, vers le quatrième ou cinquième jour ;
liq. l., liquéfaction lente, du onzième au dix-huitième jour ;
liq. t., liquéfaction tardive, après trois semaines ;
susp., espèces dont la présence indique une contamination certaine ou probable ;
dang., espèces dont la présence implique une contamination spécifique très dangereuse pour l'homme.

Tableau I.

Espèces non chromogènes, ne liquéfiant pas la gélatine.

DÉSIGNATION.	ASPECT DES COLONIES SUR PLAQUES GÉLATINE.	AUTRES CARACTÈRES ; HABITAT ORDINAIRE ; OBSERVATIONS.
Coccus aquatilis.	Blanc-porcelaine.	G + Im.
C. candicans....	Blanc laiteux.	Blanc sur gélose. Im. Air et sol.
C. candidus.....	Blanc neigeux.	Im. Air.
C. concentricus..	Blanc bleuâtre.	Im. Bords souvent dentés.
C. plumosus.....	Blanc ; prolongements latéraux.	Bords souvent relevés.
C. ureæ.....	Blanc de bougie.	Voy. *Anal. de l'urine.*
C. viticulosus.....	Blanc ; large ; irradiations dans la profondeur.	En piqûre, chevelu de filaments autour du trait.
Staphylococcus albus..	Voy. chap. XVII.	**Susp.**
Entérocoque.....	Voy. chap. XXI.	**Susp.**
Sarcina alba..... ...	Blanc ; petites colonies.	Liq. vers 15e jour.
B. typhique.....	Voy. chap. XXXI.	**Dang.**
B. paratyphiques.....	Voy. chap. XXXII.	**Dang.**
B. coli..... ..	Voy. chap. XXXIII.	**Susp.**
Pneumobacille.....	Voy. chap. XXXVI.	**Susp.**
B. lactis aerogenes....	Id.	**Susp.**
B. acidi lactici	Centre blanc ; pourtour bleuté.	Paraît identique à *B. lactis aerogenes.*
B. aquatilis sulcatus..	Cf. *B. typhique* (montagne de glace).	Mob. Culture jaune ou verdâtre sur p. de t.
B. figurans.....	Centre blanc ; filaments formant des figures irrégulières.	Un peu mob. Sur gélose en strie, culture en plume d'oiseau.
B. dendriticus	Blanc, avec ramifications latérales en dendrites.	Voile épais en bouillon. Liq. lentement gélatine, 1 à 2 mois.
B. bullescens.....	Blanc un peu brunâtre.	Im. Gaz abondants par piqûre en gélatine.
B. devorans.....	Boule blanche au fond d'une cupule.	Liq. lente ou nulle. En piqûre, forme un canal creux, sans liquéfier. Mob. G —.
Proteus Zopfii.....	Blanc floconneux ; filaments. Cf. *Moisissure à gros mycélium.*	Mob. G +. Non sporulé. En piqûre, culture arborescente.
Proteus Zenkeri.....	*Id.*	Mob. G +. Odeur putride en bouillon.
Spirillum concentricum	Disque blanc, 5 mill., cercles concentriques.	Mob., cilié, 2 à 4 spires.
Sp. undula.....	Colonies petites, transparentes, un peu jaunâtres.	2 à 5 spires. Mob., cilié. **Susp.**

Tableau II.

Espèces non chromogènes, liquéfiant la gélatine.

DÉSIGNATION.	ASPECT DES COLONIES SUR PLAQUES GÉLATINE.	AUTRES CARACTÈRES ; HABITAT ORDINAIRE ; OBSERVATIONS.
Staph. albus.....	Voy. chap. XVII.	
Streptococcus albus ...	Blanc ; bord surélevé.	Longues chaînettes. Air.
Coccus radiatus.....	Blanc, reflets vert jaune ; prolongements donnant l'aspect d'étoile de mer. Liq. r.	Sur pomme de terre, traînée brune.
Sarcina candida.....	Blanc, puis jaunâtre. Liq. r.	
Urobacillus Freudenreichii	Blanc laiteux ; bord irrégulier. Liquide visqueux. Colonies petites.	Mob. Bacilles et filaments.
Urobacillus Schutzenbergii I.....	Blanc laiteux, rond. Liq. r.	Mob. Coccobacille.
Urobacillus Schutzenbergii II.....	Id.	Mob. Bac. filamenteux.
B. megaterium.....	Col. petites, rondes, blanc gris. Liq. l.	Bac. très gros, 5 à 10 μ sur 2 μ ; peu mobiles. Gr +. Sporulés. Sol.
B. punctatus.....	Au 3e jour, liquéf. en forme de coupe ; liquide bleuâtre, avec points blancs. Liq. t. r.	Mob. Gr —. Brun sur pomme de terre.
B. vermicularis.....	Blanc gris, bord ondulé, centre plissé.	Bac. en chaînettes. Spores ovales, surtout sur pomme de terre.
B. termo (ou *Bacterium t.*).....	Au 3e jour, centre grisâtre ; autour, liquide trouble ; autour du liquide, bordure claire sinueuse. 10 mm. Parfois verdissement du milieu. Liq. r.	Bac., diplobac. et streptobac. Mob. En bouillon, trouble avec léger voile. Sur pomme de terre, enduit jaunâtre. Liquéfie le sérum coagulé.
Proteus vulgaris.....	Voy. Chap. XXXVI.	**Susp.**
Proteus mirabilis.....	Voy. Id.	**Susp.**
B. cloacæ.....	Col. bleutée en surface, jaunâtre en profondeur.	Bac. court. Mob. Gr —. Non sporulé. Paraît ne différer du *colibacille* que par la propriété de liquéfier la gélatine ; donne indol, coagule le lait, etc. **Susp.**

DÉSIGNATION.	ASPECT DES COLONIES SUR PLAQUES GÉLATINE.	AUTRES CARACTÈRES ; HABITAT ORDINAIRE ; OBSERVATIONS.
B. mesentericus vulgatus (ou *B. de la pomme de terre*).....	Au 2e jour, grosse colonie ; centre gris ou jaunâtre, pourtour plus clair ; à la périphérie, prolongements droits, drus, radiés, donnant l'aspect d'oursin.	Bac. mobile, Gr +, spores rondes. En bouillon, trouble avec voile plissé, épais, blanc. Sur pomme de terre, membrane grisâtre, lacis de festons saillants (aspect d'intestin avec ses villosités, *mesentericus*). Air, sol ; très répandu, très résistant.
B. mesentericus ruber, fuscus, niger.....	Comme le *B. mesent. vulgatus*.	Mêmes caractères que le précédent, sauf le pouvoir chromogène : culture respectivement rouge, brune ou noire sur pomme de terre.
B. subtilis.	Blanc ou jaunâtre ; d'abord arrondi, puis filaments radiaires ténus (aspect cilié). Liq. r.	Bac. long, 4 à 5 μ, mob., chaînettes. Gr +. En bouillon, voile plissé, liquide clair. Sur p. de terre, membrane blanchâtre plissée. Ubiquitaire.
B. mycoides (le *B. ramosus* et le *B. radicosus* semblent identiques à *B. mycoides*).	Au 2e jour, 5 à 10 mm., blanche, formée de filaments entrelacés, épais à la surface, minces en profondeur ; apparence nuageuse, aspect d'un mycélium de moisissure.	Bac. mobile, Gr +, 1 à 2 μ sur 1 μ. Sporulé. En strie sur gélose, culture en plume d'oiseau. En bouillon, liquide clair, voile humide, flocons au fond. Sol.
B. implexus.....	Points blancs. Au microscope, aspect de filaments entrelacés. Liq. r.	Im. Gr +. Sporulé.
B. nubilus.....	Taches grisâtres peu visibles. Au microscope, cf. le précédent. Liq. l.	Peu mob. Souvent en chaînettes.

DÉSIGNATION.	ASPECT DES COLONIES SUR PLAQUES GÉLATINE.	AUTRES CARACTÈRES ; HABITAT ORDINAIRE ; OBSERVATIONS.
B. radiatus aquatilis..	Bleutée. Au microscope. cf. le précédent. Liq. r.	Peu mob. Jaune ou brun sur pomme de terre.
B. gazoformans.....	Au 2e jour, cupule liquéfiée, masse blanchâtre ; souvent bulles de gaz. Liq. r.	Bac. grêles, mob. Jaune brun sur pomme de terre.
Vibrio choleræ.....	Voy. chap. XLI.	**Dang.**

Tableau III.

Espèces chromogènes, ne liquéfiant pas la gélatine.

DÉSIGNATION.	ASPECT DES COLONIES SUR PLAQUES GÉLATINE.	AUTRES CARACTÈRES ; HABITAT ORDINAIRE ; OBSERVATIONS.
Streptococcus cinereus.	Col. ronde, gris jaunâtre, surface plissée.	Gr +. Invisible sur p. de terre.
Micrococcus luteus....	Ronde, jaune de soufre. 2 à 4 mm.	Zooglées. Jaune-citron sur gélose. Air.
M. aquatilis luteus....	Ronde, transparente, jaune, 2 mm.	Diploc. ou streptoc. Gr —. Culture épaisse jaune sur p. de terre.
M. citreus.....	Couleur crème, 5 à 8 mm. ; surélevées.	Diploc.
M. flavus tardigradus.	Jaune de chrome ; 1 mm.	Cocci isolés ou en amas.
Urosarcina Hansenii..	Jaunâtre.	En bouillon, dépôts sableux.
B. subflavus.....	Jaune pâle ; bord éch.	Un peu mob. Chaînettes.
Spirillum serpens.....	Jaune verdâtre ou brunâtre ; ronde. Liq. t.	Mob., 10 à 30 μ, 3 à 4 spires. Jaune sur gélose, blanc sur p. de terre. **Susp.**
Sp. tenue.....	Jaune brun ; liq. t.	Mob., 4 à 15 μ, grêle, 1 à 5 spires. Rien sur p. de terre. **Susp.**
Sp. undula.....	Voy. *Tableau I.*	
B. aureus.....	Jaune d'or ; 1 à 4 mm.	Peu mob. Amas ou chaînettes.
M. aurantiacus.....	Jaune-orange.	Amas. Orange sur p. de terre. Voile jaune sur bouillon.
B. aurantiacus.....	Id.	Peu mob. Chaînettes.
M. stellatus.....	Brun jaunâtre, 2 mm. Prolongements radiés en étoile de mer.	En piqûre, arborisations autour de la strie.
B. fuscus.....	Brun jaunâtre,	Im.
B. brunneus.....	Visqueux ; d'abord blanchâtre, puis brun.	Im. Souvent sporulé.

DÉSIGNATION.	ASPECT DES COLONIES SUR PLAQUES GÉLATINE.	AUTRES CARACTÈRES ; HABITAT ORDINAIRE ; OBSERVATIONS.
B. stolonatus.....	Teinte variable, blanc ou brun, 1 mm. Très saillant en surface.	Mob. Brunit le bouillon.
M. agilis.....	Rose ou rouge, très petit.	Mob. Diploc., tétrades. Gr + .
M. roseus.....	Rose, surélevé, 1 à 3 mm.	Diploc. ou tétr. Rose en bouillon.
M. cinnabareus.....	Rouge-brique, puis cinabre, 1 mm.	Air.
Sarcina carnea.....	Rose.	
B. latericus.....	Rouge-brique ; punctiforme.	Im.
B. rubefaciens.....	Rouge vineux.	Mob.
B. rosaceus metalloides.	Boutons rouge-carmin ; 3 à 5 mm. Liq. l.	Im. Reflets métalliques sur gélatine en strie.
B. fluorescens non liquefaciens.....	Disque clair, surface chagrinée, bords sinueux. La gelée ambiante est jaune verdâtre, fluorescente.	Im. **Susp.**
B. fluorescens putridus.	Comme la précédente. Odeur forte, urineuse.	Mob. Gr —. **Susp.**
B. erythrosporus.....	Blanc ; gelée verdâtre.	Mob. Spores colorées en rouge.
B. berolinensis indicus.	Blanc d'abord, puis (4e jour) bleu-indigo.	Mob. Bleu sur gélose et sur p. de terre acide.
B. syncyaneus.....	Col. petites, muqueuses ; la gelée est bleu gris.	Peu mob. Zooglées. Lait bleu.
M. violaceus.....	Violet ; col. saillantes.	Souvent en chaînes. **Susp.**
B. janthinus.....	Centre bleu ou violet, parfois incolore, saillant ; 1 à 2 mm. Liq. t.	Peu mob. Violet sur p. de terre, sur gélose, sur le lait, qu'il coagule. **Susp.**

Tableau IV.

Espèces chromogènes, liquéfiant la gélatine.

DÉSIGNATION.	ASPECT DES COLONIES SUR PLAQUES GÉLATINE.	AUTRES CARACTÈRES ; HABITAT ORDINAIRE ; OBSERVATIONS.
M. flavus liquefaciens.	Jaune ; auréole liquéfiée, traversée par tractus radiés (en roue de voiture), 4 à 6 mm.	Diploc. et amas. Jaune sur p. de terre.
M. flavus desidens.....	Jaune brunâtre. 5 à 10 mm. Ramollit sans liquéfier.	Air. Jaune brun sur p. de terre.

DÉSIGNATION.	ASPECT DES COLONIES SUR PLAQUES GÉLATINE.	AUTRES CARACTÈRES; HABITAT ORDINAIRE; OBSERVATIONS.
St. aureus.....	Voy. chap. XVII.	**Susp.**
St. citreus.....	Voy. Id.	**Susp.**
Sarcina flava.....	Jaune; liq. r	Air.
Sarcina aurantiaca...	Jaune-orange.	Air.
B. ochraceus.....	Petites sphères, d'abord jaune pâle, puis jaune ocre doré. Liq. r.	Peu mob. Gr —. Ocre sur gélose et p. de terre.
B. arborescens.....	Jaune au centre; tantôt arrondie, avec anneau extérieur filamenteux, tantôt en forme de gerbe de blé avec ligature médiane.	Im. Gr —. Jaune brun sur gélose et p. de terre,
B. plicatus.....	Blanc jaunâtre; points saillants (aspect mûriforme).	Im.
B. mesentericus vulgatus, ruber, etc.....	Voy. *Tableau II.*	
B. subtilis.....	*Id.*	
B. cloacæ.....	*Id.*	
M. cremoides.....	En profondeur, petites col., jaune ou brun. En surface, jaunâtre; souvent prolongements radiaires.	Amas. Jaunâtre sur gélose, crème sur p. de terre.
Cladothrix chromogenes.....	Points blanc jaunâtre; auréole brune.	Odeur forte, Sur gélose, strie blanche et auréole brune.
M. fuscus.....	Brun ou noir. Liq. r.	
M. rosaceus.....	Rose.	
Sarcina rosea.....	Rose en surface; jaune en profondeur.	Rouge sur p. de terre.
B. prodigiosus.....	Col. d'abord grisâtre, puis rouge. Liq. t. r. et très étendue.	Mob. en milieux liquides. Gr —. Bacilles ou cocci suivant les milieux. Rouge sur p. de terre à 20°. **Susp.**
B. rouge de Kiel.....	Rouge, contour sinueux; liq. r., vers 5e jour.	Bac. long, 3 à 5 μ, très peu mob. Sur p. de terre, rouge violacé à 30°, carmin à 25°.
B. rouge de Lustig....	Rouge, contour sinueux. liq. r.	Très mob. Grains rouges aux pôles du corps bacillaire.
B. fluorescens liquefaciens.....	Blanc gris; le milieu ambiant présente une fluorescence verte. Liq. t. r., très étendue.	Mob. Gr —. En bouillon, trouble avec fluorescence. Putréfaction. **Susp.**

DÉSIGNATION.	ASPECT DES COLONIES ; SUR PLAQUES GÉLATINE.	AUTRES CARACTÈRES ; HABITAT ORDINAIRE ; OBSERVATIONS.
B. chlororaphis.....	Centre gris, filaments radiés ; cristaux verts dans le liquide de liquéfaction, 6e au 12e jour.	Mob. En bouillon, trouble avec souvent cristaux verts.
B. polychrome.....	Col. verte, entourée d'une zone teinte en vert ou vert bleuâtre, sans fluorescence. Souvent, grains bleus dans la colonie.	Bac. polymorphe. Gr—. Sur la plupart des milieux, pigments variables : vert, rouge, brun, violet, bleu.
B. pyocyanique.....	Voy. chap. XXV.	**Susp.**
B. cæruleus.....	Bleu ou bleu gris, 5 mm.	Mob.
B. lividus.....	Bleu noir, col. en taches d'encre.	Mob. Bleu noir sur gélose.
B. violaceus.....	Membrane épaisse, d'abord jaunâtre, puis violette. Liq. r.	Violet noir sur gélose. **Susp.**

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DE L'AIR.

Pour le moment, l'analyse bactériologique de l'air est beaucoup moins importante que l'analyse de l'eau.

Pasteur a établi le premier que l'air renferme toujours des microbes, plus dans les régions habitées, moins dans les régions inhabitées. Les nombreuses recherches faites depuis n'ont guère fait que confirmer ces constatations initiales.

Le nombre des microbes de l'air est toujours relativement peu élevé. Aussi est-il toujours nécessaire de faire porter les analyses sur une quantité considérable, au moins plusieurs litres d'air, à l'aide d'appareils spéciaux.

Les appareils actuels utilisent toujours l'*aspiration*. Pour aspirer de faibles volumes, on peut relier les appareils aux aspirateurs à eau (2 à 50 litres) des chimistes, ou bien à de grands flacons à écoulement d'eau ; le volume d'eau écoulé indique le volume d'air introduit. Quand on veut aspirer des volumes d'air plus considérables, on utilise soit la trompe à eau (chap. XI), soit un ventilateur ; le débit peut être mesuré par un compteur à gaz.

Appareils pour l'analyse de l'air.

On peut classer en trois groupes les appareils proposés. Les microbes se déposent sur un milieu solide ; ou bien ils sont captés sur une bourre formant filtre ; ou bien on les émulsionne dans un liquide.

I. **Dépôt sur milieu solide.** — Les procédés de cet ordre sont très imparfaits, car beaucoup de germes échappent. Citons le *tube de Hesse.*

Un tube de verre long et large (70 centimètres × $3^{cm},5$), stérilisé, est fermé à chaque bout par un bouchon à un trou, muni d'un tube de verre ; au moment de l'emploi, on verse dans le tube de la gélose ou de la gélatine, qu'on enroule et refroidit suivant le procédé d'Esmarch. Le tube est monté sur un pied, comme les appareils à photographie; on aspire lentement par une extrémité 20 litres par heure. L'air circulant lentement, une partie des germes se dépose sur les parois.

II. **Filtration sur bourres formant filtre.** — Ces procédés sont indiqués surtout lorsque les cultures ne peuvent être faites qu'un certain temps après les prélèvements. Ils fonctionnent mal par temps humides.

On peut utiliser des bourres insolubles ou des bourres solubles.

Bourres insolubles. — *Procédé de Petri.* — Dans un tube de verre, on intercale quatre tamis en cuivre, délimitant deux cylindres ; chaque cylindre est rempli de sable fin. L'air est aspiré par une tubulure latérale. Pour les cultures, on verse le sable dans de la gélatine fondue, qu'on coule en boîte après mélange.

Fig. 364. — Filtre à bourre de Miquel.

Procédé de Miquel. — Très analogue, mais plus simple. On prépare d'abord le sable : le passer au tamis Wolf, garder ce qui passe à la toile n° 60 et rejeter les grains qui traversent la toile n° 80; laver, sécher.

D'autre part, étrangler un tube de verre, ouvert aux deux extrémités (fig. 364) ; tasser sur l'étranglement un tampon de coton O ; verser le sable en B, sur une hauteur de 8 à 10 centimètres. Boucher aux deux bouts, stériliser à sec.

Pour l'emploi : placer le tube verticalement, sable en haut; relier l'extrémité inférieure à un aspirateur; déboucher l'extrémité supérieure; aspirer. L'opération terminée, verser le sable dans de l'eau stérile, agiter fortement, ensemencer l'eau en gélatine.

Procédé de Frankland. — On substitue au sable deux bourres de coton de verre. Mais cette substance se dissocie difficilement dans les liquides.

Bourres solubles. — Les bourres solubles sont préférables aux précédentes, parce qu'elles permettent facilement de mettre en culture tous les microbes arrêtés sur le filtre.

Procédé de Miquel. — L'appareil est construit comme pour le procédé ci-dessus du même auteur. La bourre employée est le sulfate de soude desséché, proposé par A. Gautier : on chauffe le sulfate à 200° ; il se dissout d'abord dans son eau de condensation, puis se solidifie à nouveau et se dessèche. Le sel des-

séché est pilé au mortier, tamisé, stérilisé; on garnit l'appareil comme ci-dessus.

Après fonctionnement, la bourre est dissoute dans 10 centimètres cubes d'eau stérile, qu'on répartit en milieu de culture (gélose ou gélatine).

III. **Émulsion dans les liquides.** — Tous les procédés, sauf celui de Richet, sont basés sur le barbotage.

Ils sont indiqués lorsque la culture peut être faite sitôt après l'ensemencement.

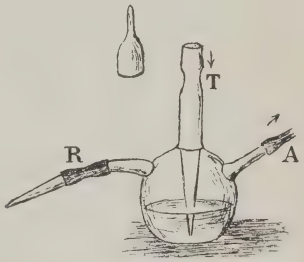


Fig. 365. — Ballon diluteur de Miquel.

Procédé de Miquel. — On emploie le *ballon diluteur* de Miquel (fig. 365). C'est un ballon à trois tubulures : l'une, centrale, fermée à l'extérieur par un capuchon de verre, plonge au fond du ballon; les deux autres sont latérales : la première sera mise en communication avec l'aspirateur ; la seconde, munie d'un ajutage de caoutchouc terminé par une pipette scellée, servira plus tard à répartir le liquide. On verse dans le ballon une quantité connue d'eau ; on stérilise.

Pour l'emploi, la tubulure A est reliée à l'aspirateur ; on enlève le capuchon : l'air passe par T et s'échappe par A, après avoir barboté dans l'eau. L'aspiration terminée, on rince d'abord en aspirant l'eau à plusieurs reprises; on casse ensuite l'extrémité de la pipette et on répartit l'eau dans les milieux de culture (plaques de gélatine).

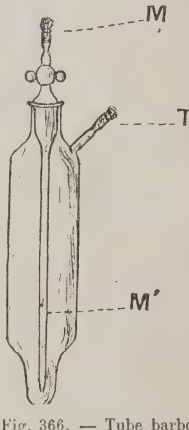


Fig. 366. — Tube barboteur de Straus et Wurtz.

Procédé de Straus et Würtz. — L'appareil (fig. 366) se compose d'un flacon cylindrique, rétréci au fond; le col laisse passer un tube-pipette MM' formant bouchon et plongeant presque à fond. Sur le côté, le flacon porte une tubulure latérale étranglée T, avec un tampon d'ouate sous l'étranglement, un autre au-dessus. On verse dans le cylindre la quantité de gélatine, 10 centimètres cubes, nécessaire pour remplir l'appendice : on stérilise, puis on ajoute I ou II gouttes d'huile stérilisée, pour éviter la formation de mousse pendant le barbotage.

Pour l'emploi, après avoir débouché le tube central et liquéfié la gélatine, relier à l'aspirateur, faire barboter, en tenant le fond de l'appareil à la main pour empêcher la gélatine de se solidifier; l'opération terminée, rincer le tube central avec la gélatine, faire tomber dans le milieu le tampon, mélanger; enrouler la gélatine sur le cylindre et faire solidifier, comme pour le tube d'Esmarch.

Procédé de Laveran. — C'est le plus pratique des procédés de ce groupe. L'appareil de Laveran (fig. 367) comporte deux longs tubes à essai, réunis en haut par une tubulure horizontale ; chacun d'eux est obturé par un bouchon de caoutchouc portant une pipette qui plonge au fond. L'une des pipettes est graduée en dixièmes de centimètre cube ; l'un des tubes porte un trait de jauge à 10 centimètres cubes. On verse 10 centimètres cubes d'eau sucrée à 1 p. 100 dans le tube gradué ; on stérilise à l'autoclave, pipettes garnies d'ouate.

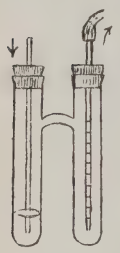


Fig. 367. — Appareil de Laveran pour analyse de l'air.

Pour l'emploi, la pipette graduée est reliée à l'aspirateur ; l'air passe par l'autre pipette, barbote dans l'eau, et finalement s'échappe par la pipette graduée. Grâce aux brisures multiples du trajet, tous les germes se déposent. Quand on a fait passer assez d'air, on arrête l'aspiration on rince avec l'eau sucrée d'abord la pipette, puis, à plusieurs reprises, en inclinant l'appareil, la tubulure de jonction et le deuxième tube ; finalement, on aspire l'eau sucrée par la pipette graduée et on répartit en milieux de culture (gélose, gélatine).

Procédé de Richet. — Ce procédé est surtout indiqué quand on veut analyser des volumes d'air considérables. L'appareil a été proposé pour purifier l'air amené par les ventilateurs, mais il peut servir également pour les analyses.

Un ventilateur électrique est placé dans un cylindre métallique, ouvert aux deux extrémités ; au-dessus du ventilateur, se trouve un flacon plein d'eau, qui laisse tomber l'eau goutte à goutte sur les ailettes du ventilateur. Quand ce dernier est en marche, les germes amenés avec l'air sont captés, au moins en partie, par l'eau qui tombe en pluie ; cette eau est projetée par les ailettes sur les parois du cylindre, d'où elle ruisselle. On la recueille et répartit en milieux de culture.

Analyse quantitative.

Le nombre des germes est toujours rapporté au *mètre cube.*

Avec l'un ou l'autre des appareils précédents, il est facile de dénombrer les germes de l'air. Les ensemencements sur gélatine ou sur d'autres milieux sont pratiqués et observés comme d'ordinaire. Connaissant, d'une part, le volume d'air analysé ; d'autre part, le nombre des germes obtenus sur la totalité des plaques, on en déduit le nombre de germes par mètre cube.

Si, par exemple, on a aspiré 10 litres d'air et que les cultures donnent 50 colonies, on dit que l'air renferme 5000 germes par mètre cube.

Pour fixer les idées, citons quelques chiffres. L'air marin, au large, est très pur, à peine 1 germe par mètre cube ; il en est de même sur les

montagnes et aux pôles. A Paris, on trouve dans les rues environ 3 000 à 10 000 germes; dans les hôpitaux, 16 000 et parfois 50 000, ou plus (Miquel, Laveran).

Analyse qualitative.

L'analyse qualitative a surtout été faite par isolement des colonies obtenues sur gélatine ou gélose. On n'a guère trouvé jusqu'ici que des espèces banales.

Il est cependant établi que certains germes pathogènes peuvent exister quelque temps dans l'atmosphère (microbes de la bouche, du pharynx, etc.); les malades projettent en parlant ou en toussant des gouttelettes (gouttelettes de Flügge) qui restent peu de temps en suspension et se sédimentent ensuite avec les poussières. Si, par exemple, on place à diverses hauteurs des boîtes de Petri pleines d'eau dans un espace clos où l'on fait ensuite tousser un tuberculeux, on constate que l'eau, inoculée au cobaye, le tuberculise souvent; le Bacille de Koch a donc existé dans l'atmosphère. Mais, après quelques minutes, les germes se déposent.

Analyse des poussières.

Elle a fourni quelques résultats intéressants, car les poussières concentrent en quelque sorte les microbes de l'atmosphère ambiante. On les analyse facilement en émulsionnant dans l'eau et ensemençant le liquide de lavage.

Le nombre des microbes, *par gramme*, est toujours élevé, plus dans les lieux habités; en moyenne, 500 000 à 5 000 000.

L'analyse qualitative y a parfois décelé la présence de germes pathogènes : Streptocoque et Pneumobacille (Kelsch et Simonin), Pneumocoque (Netter), Bacille de Koch (Cornet), Bacille diphtérique, Bacille tétanique, Vibrion septique, etc. Ces diverses constatations ont été faites après inoculation à l'animal : le nombre si élevé des germes rend en effet bien délicat l'isolement rigoureux des espèces pathogènes.

TABLE ALPHABÉTIQUE

Abcès des lapins, 191.
Accidents sériques, 88.
Acétique (fermentation), 29.
Achard, Lannelongue et Gaillard (sérum antituberculeux de), 776.
Achorions, 837.
— (caractères microscopiques généraux des), 837.
— gallinæ, 837.
— quinckeanum, 837.
— Schœnleini, 837.
Acido-résistants (bacilles), 786.
Actinobacillose, 801.
Actino-congestine (expériences de MM. Richet et Portier sur l'), 86.
Actinomyces bovis, 25, 794.
— (action pathogène expérimentale), 799.
— (coloration), 796.
— (cultures), 796.
— (habitat, action pathogène), 798.
— (morphologie), 794.
— (propriétés biologiques), 797.
Actinomycose, 794.
— (diagnostic bactériologique de l'), 800.
Actions fermentatives, 27.
Aérobies, 13.
— (fixation d'oxygène par un microbe), 183.
— (isolement des microbes), 165.
— (procédés de culture et ensemencement des microbes), 153.
Agalactie contagieuse de la brebis et de la chèvre, 1060.
Age (influence de l') sur la réceptivité, 39.
Agents chimiques (action des) sur les bactéries, 22.
— microbiens (action des) sur les bactéries, 22.
Agglutination, 50, 59, 361.
Agglutinations de l'Actinomyces bovis, 798.
— du bacille de Löffler par le sérum antidiphtérique, 420.
— — dysentériques du type Flexner, 556.
— — paratyphique A, 518.
— — pesteux, 642.
— — de Pfeiffer, 587.
— — du rouget du porc, 464.
— — du tétanos, 669.
— — tuberculeux, 769.
— — typhique, 480.
— — coccobacille de la coqueluche, 593.
— du colibacille, 533.
— (différents procédés pour la recherche de l'), 64.
— (mécanisme de l'), 62.
— du méningocoque, 324.
— du pneumocoque, 298.
— du sérum, 59.
— — antiméningococcique, 342.
— — charbonneux, 398.
— — morveux, 454.
— — normaux, 62.
— — des sujets infectés par le micrococcus melitensis, 366.
— du sporotrichum Beurmanni, 812.
— du streptocoque, 277.
— (technique de l'), 64.
— du tréponème, 876.
— du vibrion cholérique, 608.
— du vibrion septique, 688.
Agglutinines, 57, 60.
— (détermination de la nature spécifique ou non des), 65.
— (épreuve d'absorption des), 65.
— de groupe ou coagglutinines, 63.
— (rapports entre les) et les précipitines, 68.
— (saturation des), 65.
— spécifiques, 60, 236.
Agglutinine non spécifiques, 62.
Aiguilles (stérilisation des), 213.
Air (analyse bactériologique de l'), 1121.
— (analyse qualitative de l'), 1125.
— (appareils pour l'analyse de l'), 1121.
Albumineuses (sérosités), 135.
Alcoolique (fermentation), 28.
Alexine, 44, 47, 51, 69, 71.
Algues bleues, 2.
Alimentaire (anaphylaxie), 90.
Alimentation des bactéries, 24.
Alttuberculin, 762.
Ambocepteur, 48, 69.
Amibiase cérébrale, 957.
— (diagnostic microscopique de l'), 947.
— hépatique, 957.
— intestinale, 947.
Amibes, 924.
— diverses, 945.
— dysentérique, 924.
— dysentérique (cultures), 934.
— — (formes de dégénérescence de l'), 931.
— — (formes enkystées de l'), 931.
— — (formes végétatives de l'), 295.
— — (pouvoir pathogène de l'), 938.
— — (propriétés biologiques), 934.
— — (vitalité), 937.
— vulgaire du côlon, 940.
Ammoniacale (fermentation), 29.
Amœba buccalis, 946.
— coli, 924.
— dysenteriæ, 924.
— maxillaris, 946.
— urogenitalis, 947.

Amylase, 27.
Anaérobies, 14.
— (culture et isolement des), 172.
— facultatifs, 14.
— (isolement des), 184.
— (isolement des) en tubes, 185.
— (microbes) des processus fétides et gangreneux, 720.
— pathogènes (recherches des) dans les exsudats des plaies, 1068.
— (pipette de Roux pour), 179.
— (procédés de culture des), 177.
— (recherches des) dans les eaux, 1111.
— (streptocoques), 725.
— (tube de Roux pour), 186.
— (tube de Vignal pour isolement des), 185.
Analyse de l'air (appareils pour l'), 1121.
— bactériologique de l'air, 1121.
— — des angines, 1078.
— — appliquées à la clinique, 1066.
— — des crachats, 1073.
— — de l'eau (feuilles de renseignements pour l'), 1103.
— — des eaux, 1101, 1112.
— — — (principes généraux pour l'), 1104.
— — des exsudats séro-fibrineux, 1086.
— — appliquées à l'hygiène, 1101.
— — du liquide céphalo-rachidien, 1082.
— — du pus, 1070.
— — du sang, 1090.
— — des selles, 1098.
— — de l'urine, 1095.
— qualitative de l'air, 1125.
— — de l'eau, 1108.
— quantitative de l'air, 1124.
Anaphylactiques (manifestations) chez l'homme, 88.
Anaphylaxie, 86.
— alimentaire, 90.
— (anti-), 93.
— (injections de sérum et), 88.
— au liquide de kyste hydatique, 90.
Anaphylaxie (manifestations expérimentales de l'), 86.
— (mécanisme de l'), 91.
— sérique, 88.
— (spécificité de l'), 93.
— (Théorie de Besredka), 91.
— (Théorie de Biedl et Kraus), 93.
— (Théorie de M. Nicolle), 92.
— (Théorie de von Pirquet et Shick), 91.
— (Théorie de (Ch. Richet), 91.
— (Théorie de (Vaughan), 92.
— à la tuberculine et à la maleine, 90.
Anaplasma marginale, 1000.
Anasarque du cheval (streptocoque de l'), 285.
Anémie pernicieuse du cheval, 1065.
Anesthésie des animaux, 193, 196.
Angines (analyse bactériologique des), 1078.
— à bacilles fusiformes, 737.
— de Vincent, 735.
Animaux (inoculation aux), 171.
— pour l'inoculation (choix de l'espèce et mode d'inoculation), 210.
— de laboratoire, 188.
— — (chenils, cages, bocaux pour), 189.
— — (élevage et entretien des), 188.
— — (maladies des), 191.
— — (préhension, contention, anesthésie des), 193.
— — (prélèvements chez les), 215.
— (inoculations des), 196.
— inoculés (observation des), 209.
— (pasteurella des), 664.
— (réceptivité des), 210.
— sauvages (pasteurella des), 662.
Anti-anaphylaxie, 93.
Anticharbonneuse (sérothérapie), 408.
— (symptômes et accidents dus à la vaccination), 407.
— (vaccination), 406.
Anticholérique (sérum), 608.
— (vaccination), 631.
Anticolilysine, 537.
Anticoqueluclieux (sérum), 596.
Anticorps, 512.
— dans le sérum antichar-bonneux, 405.
— — des pneumoniques, 297.
Antidiphtérique (sérum) 445.
Antidysentérique (sérothérapie), 574.
— (sérum), 574.
— (vaccination), 572.
Antigène, 70, 73, 74.
— de Desmoulières, 862.
— syphilitique (préparation de l'), 862, 869.
Antigonococcique (sérothérapie), 362.
— (vaccinothérapie), 362.
Anti-mélitococcique (sérothérapie), 370.
— (vaccination), 370.
Antiméningococcique (réaction vis-à-vis du sérum), 329.
—(sensibilisatrice du sérum), 330.
— (sérothérapie), 348.
Antimorveuse (vaccination), 460.
Antipesteuse (sérothérapie), 652.
— (vaccination), 653.
Antipesteux (effets du serum) sur la peste expérimentale, 652.
Antirabique (sérum), 1051.
— (vaccination), 1051.
Anti-scarlatineux (sérum), 285.
Antisensibilisine, 92.
Antiseptiques (action des) sur les bactéries, 22.
— (stérilisation par les), 114.
Antisérums (réactions aux) du bacille dysentérique, 556.
— (réactions du gonocoque vis-à-vis de l'), 355.
Antistreptococcique (sérothérapie, 283.
Antisyphilitique (sérothérapie), 877.
— (vaccination), 877.
Antitétanique (sérum), 681.
— (vaccination), 685.
Antitoxines, 56.

Antitoxique (théorie) de l'immunité, 45.
Antituberculeuse (vaccination), 772.
Antityphique (sérum) de Besredka, 515.
— — de Chantemesse, 514.
— — de Rodet et Lagriffoul, 515.
— (vaccination), 508.
— — résultats pratiques, 512.
Appareils pour l'analyse de l'air, 1121.
— Chamberland pour filtration par compression, 113.
— à contention, 194.
— de filtration, 109.
— — de Chamberland, 110.
— — de Martin 111.
— générateur d'hydrogène, 174.
— pour inoculations, 197,
— Latapie pour récolte du sang, 132.
— Latapie pour récolte du sérum, 132.
— Lumière pour récolte du sérum, 218.
— de Miquel pour prélever les eaux en profondeur, 1102.
— de Roux pour produire l'hydrogène, 173.
Arloing, Cornevin et Thomas (procédé de) pour la vaccination contre le Bacillus Chauvæi, 731.
Arsonval (étude d'), 147.
Artère (ponction de l') pour prélèvement du sang, 217.
Arthrites (recherche du méningocoque dans le pus des), 333.
Arthrospores (sporulation par), 13.
Arthus (expérience et phénomène d'), 87.
Artichaut, milieu de culture, 129.
Aryesky (procédé de) pour la coloration des spores, 245.
Ascoli (réaction d') pour la réalisation du diagnostic bactériologique du typhus exanthématique, 1035.
Aspergillose 823.
Aspergillus Bouffardi, 803.
— fumigatus, 823.
— — (action pathogène expérimentale), 825.
Aspergillus fumigatus (cultures), 824.
— — (diagnostic bactériologique), 826.
— — (habitat, mode d'infection chez l'homme), 825.
— — (morphologie), 823.
— lepidophyton, 839.
— nidulans, 803.
— niger (culture de l'), 16.
— (propriétés biologiques), 824.
Assimilation des bacilles, 17.
Associations microbiennes, 23, 38.
— — (rôle des) sur l'infection, 38.
Asterococcus mycoïdes, 1027.
Asteroides streptothrix, 804.
«Atypiques» (bacilles dysentériques intermédiaires, dits), 561.
Autoclave Chamberland, 99.
Autoclave Chamberland comme appareil à vapeur sous pression à 100°, 103.
Autolyse aseptique (procédé de l') pour la préparation de la toxine dysentérique, 552.
Autopsies, 218.
— chez l'animal, 219.
— des centres nerveux, 220.
— générale, 219.
— chez l'homme, 218.
— (préparatifs de l'), 219.
Bacillaire (dysenterie), 542.
Bacilles, 3.
— accidentellement acido-résistants, 787.
— acido-résistants, 786.
— — (coloration des), 242.
— — dans les pseudo-tuberculoses, 786.
— — vrais, 786.
— (assimilation des), 17.
— atypiques (signification des), 563.
— aviaire (caractères particuliers du), 751.
— de du Cazal et Vaillard, 791.
Bacilles du chancre mou, 597.
— — (action pathogène expérimentale), 599.
— de la conjonctivite aiguë contagieuse, 590.
— diphtérique, 4, 410.
— — (action pathogène expérimentale), 423.
— — (le) chez les animaux, 423.
— — et bacilles diphtérimorphes, 430.
— — et bacilles pseudo-diphtériques, 430.
— — (coloration du), 412.
— — (culture du), 415.
— — (habitat, persistance, associations secondaires), 421.
— — (immunité), 444.
— — (morphologie), 411.
— — (propriétés biologiques du), 417.
— — (réactions biochimiques), 418.
— — (toxine), 425.
— — (vaccination préventive), 449.
— — (virulence), 418.
— — (vitalité), 417.
— de Ducrey, 597.
— — (siège du), 598.
— dysentérique, 542.
— — (action du sérum sur les différents types de), 575.
— — (agglutination du), 568.
— — (considérations générales sur les), 559.
— — Y de Hiss, 557.
— — (identification du), 567.
— — intermédiaires dits «atypiques», 561.
— — — (caractères des), 561.
— — (isolement du), 566.
— — (sérodiagnostic du), 569.
— — type Shiga (action pathogène), 549.
— — — (culture du), 544.
— — — (morphologie et aspect microscopique), 543.
— — — (propriétés biologiques), 545.
— — — (réactions du) vis-à vis des antisérums, 547.

Bacille dysentérique (vitalité, 545.
— — (siège des), 560.
— — (tableau résumant les caractères différentiels des), 558.
— — du type Flexner, 555.
— — — Strong, 557.
— — — Flexner (action pathogène expérimentale des), 556.
— — — (toxine des), 557.
— d'Eberth, 469.
— — (aptitude agglutinative du), 481.
— des empoisonnements alimentaires, 520.
— encapsulés, 381.
— en épingle, 666.
— érythrogène, 375.
— d'Escherich, 530.
— de Friedmann, 778.
— fusiforme, 735.
— — (action pathogène), 737.
— — (cultures), 736.
— — (morphologie), 735.
— — (recherches et diagnostic), 740.
— de Gartner, 529.
— de Hansen, 779.
— d'Hoffmann, 432.
— du hog-choléra, 527.
— de Klebs-Löffler, 410.
— de Koch, 741.
— — (recherches du) dans les exsudats séro-fibrineux, 1087.
— de la lèpre, 779.
— — (cultures), 780.
— — (diagnostic bactériologique de l'injection), 783.
— — (morphologie), 779.
— — (pouvoir pathogène), 782.
— — (réactions à l'égard des sérums), 781.
— — (siège), 782.
— — (thérapeutique bactériologique), 785.
— de Löffler, 410.
— — (agglutination du) par le sérum antidiphtérique, 420.
— — (recherche du), 435.
— mélanogène, 375, 376.
— de la morve, 450.
— — (agglutination du), 454.
Bacille dysentérique (caractères biologiques), 452.
— — (cultures), 451.
— — (habitat et manifestations pathologiques), 455.
Bacille de la morve (immunité), 460.
— — (morphologie), 451.
— — (vaccination), 460.
— — (virulence), 452.
— — (vitalité), 452.
— — (recherche du) dans l'organisme, 458.
— de la nécrose, 792.
— neigeux, 722.
— de Nicolaier, 665.
— paratuberculeux, 786.
— paratyphiques A, 516.
— — (cultures), 517.
— — (diagnostic bactériologique de l'infection par les), 519.
— — (morphologie), 516.
— — (pouvoir pathogène), 519.
— — (propriétés biologiques), 518.
— — (siège), 519.
— — (toxines), 519.
— — B, 520.
— — B (action pathogène), 524.
— — B (cultures), 521.
— — B (diagnostic bactériologique de l'infection), 526.
— — B (morphologie), 521.
— — B (propriétés biologiques), 522.
— — B (réactions des) à l'égard du sérum, 523.
— — B (vaccination contre les), 527.
— — B, 522.
— — et salmonelloses, 516.
— — (tableau indiquant les caractères essentiels des), 478.
— de la peste, 637.
— — — (action pathogène expérimentale), 645.
— — (cultures), 639.
— — (diagnostic bactériologique de l'infection), 647.
— — (divers habitats), 643.
— — (morphologie), 637.
— — (propriétés biologiques), 640.
— — (toxine), 642.
Bacille pesteux (virulence) 640.
— — (vitalité), 640.
— — (voies d'infection), 645.
— — (agglutination du), 642.
— — chez les animaux, 644.
— — chez l'homme, 643.
— de Pfeiffer, 583.
— — (action pathogène), 587.
— — (cultures du), 584.
— — (morphologie des), 583.
— — (propriétés biologiques), 586.
— — (vitalité), 586.
— pisciaire, 777.
— (porteurs de) 491.
— de Preisz-Nocard, 791.
— pseudo-diphtérique, 430.
— pseudo-tétanique de Tavel, 717.
— de la psittacose, 527.
— du pus bleu, 371.
— putrificus, 686, 717, 720.
— pyocyanique, 25, 370.
— — (action pathogène), 377.
— — (anomalies et races artificielles), 377.
— — (cultures), 372, 374.
— — (inoculation expérimentale et virulence), 378.
— — (morphologie), 372.
— — (pouvoir chromogène), 377.
— — (propriétés biologiques), 373.
— — (réaction à l'égard des sérums), 377.
— — (siège), 379.
— — (toxines), 379.
— — (vaccination ; sérothérapie), 380.
— pyocyanogène, 375.
— ramifiés, 3.
— du rhinosclérome, 381, 388.
— du rhumatisme articulaire aigu, 705.
— du rouget du porc, 462.
— — (action pathogène expérimentale), 464.
— — (cultures), 463.
— — (diagnostic bactériologique de l'infection par le), 465.

Bacille du rouget du porc (morphologie), 463.
— — (propriétés biologiques), 464.
— — (sérothérapie), 467.
— — (vaccination), 466.
— — (virulence), 464.
— — (vitalité), 464.
— de Schmorl, 792.
— du smegma, 787.
— du tétanos, 665.
— — (action pathogène expérimentale), 672.
— — (cultures), 667.
— — (diagnostic de l'infection par les), 680.
— — (pouvoir pathogène), 670.
— — (propriétés biologiques), 668.
— — (toxine), 673.
— — (vitalité), 668.
— tuberculeux, 741, 747.
— — (action pathogène), 753.
— — (agglutination du), 769.
— — aviaire, 742.
— — (coloration), 745.
— — (diagnostic bactériologique de l'infection par le), 766.
— — (culture du) des crachats, 1078.
— — humain et bovin, 741.
— — humains et bovins (diagnostic entre les), 759.
— — des mammifères, 742.
— — (modes habituels d'inoculation), 756.
— — (morphologie), 743.
— — pisciaire, 743.
— — (propriétés biologiques), 751.
— — (recherche du) dans les crachats, 1076.
— — dans les exsudats séro-fibrineux, 1087.
— — (recherche des microbes autres que le) dans les crachats, 1074.
— — (autres que le) dans les exsudats séro-fibrineux, 1089.
— — (recherche des microbes autres que le) dans l'urine, 1097.
— — dans l'urine, 1098.
— — (siège), 760.
Bacille du rouget du porc (thérapeutique bactériologique), 775.
— — morts (toxicité des), 761.
— — (toxines), 761.
— — (vaccination), 772.
Bacille tuberculeux (vitalité), 751.
— tuberculoïdes, 786.
— typhique, 469.
— — agglutiné (culture du), 507.
— — (cils du), 470.
— — (concentration par dépôt sur bougie filtrante), 500.
— — (cultures du), 471, 505.
— — (diagnostic bactériologique de l'infection par le), 501.
— — (étude du Bacillus fœcalis alcaligenes comparé au), 540.
— — chez l'homme, 489.
— — dans les milieux extérieurs, 491.
— — (morphologie), 469.
— — paratyphiques A, B, et colibacille (tableau indiquant les caractères essentiels des), 478.
— — (persistance du) chez les typhiques guéris, 491.
— — (pouvoir pathogène), 483.
— — (procédés de recherche du), 492.
— — (procédé de sélection basé sur la mobilité), 499.
— — (propriétés biologiques), 475.
— — (réactions biochimiques), 476.
— — (réaction du), à l'égard des sérums, 480.
— — dans la bile, 508.
— — dans l'eau, 499.
— — dans les excreta, 507.
— — dans la rate, 508.
— — dans le sang, 501.
— — dans les selles, 492.
— — dans les urines, 508.
— — sensibilisés (vaccination par), 511.
— — (siège, habitat), 489.
— — (toxines), 486.
— — (vaccination), 508.
Bacille tuberculeux (vaccination chez les animaux), 509.
— — (vaccination chez l'homme), 509.
— — (vitalité), 475.
— violets, 25.
— virgule, 601.
— vivants, 509.
Bacille de Weeks, 590.
— de Yersin, 637.
Bacillus œdematiens maligni, 688.
— aerofœtidus, 718.
— lactis aerogenes, 381, 387.
— bellonensis, 686, 706.
— — (action pathogène du), 709.
— — (cultures du), 708.
— — (immunité), 711.
— — (morphologie), 706.
— — (propriétés biologiques du), 709.
— — (sérothérapie), 712.
— — (toxine), 711.
— bifidus, 734.
— botulinus, 733.
— Butschlii, 6, 10, 11.
— capsulatus mucosus, 388.
— Chauvæi, 726.
— — (action pathogène), 729.
— — (cultures), 727.
— — (morphologie), 727.
— — (propriétés biologiques), 728.
— — (toxines), 730.
— — (vaccination), 730.
— — (vitalité), 728.
— coli communis, 530.
— cuti communis, 434.
— enteritidis, 529.
— fallax, 687.
— Fallax, 718.
— (familles), 3.
— fluorescens non liquefaciens, 541.
— fœcalis alcaligenes, 540.
— — alcaligenes (étude du) comparé au Bacille typhique, 540.
— fragilis, 722.
— funduliformis, 721.
— histolyticus, 687, 718.
— maximus buccalis, 7.
— mesentericus vulgatus, 37.
— mucosus capsulatus, 382, 388.
— nebulosus, 723.

Bacille œdematiens, 706.
— — (cultures), 712.
— — (morphologie), 712.
— — — (propriétés biologiques), 713.
— — (sérothérapie), 714.
— — (toxine), 714.
ozenæ, 381.
— perfringens, 686, 700, 720.
Bacillus perfringens (action pathogène), 702.
— — (caractères de cultures), 701.
— — (morphologie), 700.
— — (propriétés biologiques), 702.
— — (sérothérapie), 704.
— — (toxine), 703.
— prodigiosus, 4.
— radiiformis, 723.
ramosus, 721.
— serpens, 722.
— sporogenes, 686, 715, 720.
— subtilis, 14, 20, 37.
— thétoïdes, 721.
Bactéridie charbonneuse, 389.
— — (culture gangrène), 392, 395.
— — (immunité), 406.
— — (morphologie), 389.
— — (pouvoir pathogène), 398.
— — (procédé de Roux pour le développement de la), 392.
— — (propriétés biologiques), 394.
— — (recherche de la), 404.
— — recherche dans les milieux extérieurs, 406.
— — (répartition de la) dans l'organisme, 403.
— — (sérothérapie), 408.
— — sporulée, 391.
— — (vaccination), 406.
— — (virulence), 396.
— — (vitalité), 394.
Bactérienne (flore des eaux), 1113.
Bactéries (action des agents chimiques sur les), 22.
— (— extérieurs sur les), 19.
— (— microbiens sur les), 22.
— (— antiseptiques sur les), 22.
— (— du froid sur les), 20
Bactéries (actions de la lumière sur les), 21.
— (— du radium sur les), 21.
— (— de la température sur les), 24.
Bactéries (alimentation des), 24.
Bactéries anaérobies (autres) rencontrées dans la gangrène gazeuse, 715.
— (assimilation des), 17.
— calcifuges, 18.
— calcicoles, 18.
— (désassimilation des), 18.
— (dessiccation des), 22.
— (fermentation des), 27.
— (formes et dimensions des), 2.
— (germination polaire d'une), 12.
— (mobilité des), 7.
— (nutrition des), 15.
— pathogènes, 37.
— (pléomorphisme des), 3.
— pyogène de la vessie, 535.
— (résorption des), 48.
— (respiration des), 13.
— saprophytes, 36.
— (sécrétion et diastase des), 26.
— (structure des), 5.
— thermophiles, 19.
— urinaire, 535.
— (vie saprophytique et rôle pathogène des), 36.
Bactériologiques (analyses) appliquées à la clinique, 1066.
— (— à l'hygiène), 1101.
Bactériologiques (coupes), 249.
— (prélèvements), 249.
Bactériolyse, 50, 68.
— (mécanisme de la), 68.
Bactériolysines, 57.
Bacteriophagum intestinale, 1061.
Bactériotropines, 55, 77.
Bacterium aceti, 29.
— (familles), 3.
— Zopfii, 4.
Bactéroïdes, 18.
Baguettes et spatules d'étalement, 156.
Bain-marie à stérilisation du sérum, 105.
Balanite érosive (spirille de la), 851.
Baleri, 1021.
Ballon diluteur de Miquel, 1123.
— à fond plat, à fond rond, 154.
— pipette Chamberland, 133, 141.
Balthazard (toxine typhique de), 488.
Barsiekov (milieu de), 473.
Barthélemy et Carles (procédé de) pour la concentration des kystes dans les selles, 951.
Bâtonnets incurvés, 3.
— (schéma de la division des), 10.
Bauer (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 871.
Baumgarten (méthode de) pour la coloration de la lèpre, 779.
Bec Bunsen, 95.
Behring (bovo-vaccin de), 774.
— (procédé de) (essai du sérum antidiphtérique), 448.
Beraneck (tuberculine de), 766.
Berkefeld (bougies), 107.
Besredka (endotoxine de), 489.
(procédé de) pour la préparation de la toxine pesteuse 642.
— (procédé de) pour la préparation de la toxine dysentérique, 553.
— (procédé de) pour la vaccination anticholérique, 632.
— (procédé des vaccinations subintrantes de), 94.
— (— sérum antityphique de), 515.
— (sérum de), 284.
— (théorie de) de l'anaphylaxie, 91, 93.
Bezançon, Griffon et Philibert (technique de) pour l'analyse bactériologique du sang, 1091.
Bezançon et Philibert (procédé de) pour l'homogénéisation des crachats, 1077.
Bile (action dissolvante de la) sur le pneumocoque, 296.
Biliculture, 508.

Blastocystis hominis, 955.
Blennorragique (pus), 350.
Bobine de fil stérile, 197,
Bocaux pour animaux de laboratoire, 189.
Boidin (procédé de) pour l'obtention de toxine charbonneuse, 398.
Boîte de Koch, 133.
— de Pétri, 154.
— — (ensemencement en), 166, 168.
— — (ensemencement de), avec gélose-ascite ensemencée avec du mucus rhino-pharyngé, 338.
Bollinger (maladie de), 662.
Bonome (streptocoque de), 312.
Bordet et Gengou (coccobacille de), 592.
— — (épreuve de), 327.
— — (technique de la réaction de fixation de), 72.
Bordet (virus de), 1027.
Borrel et Burnet (méthode de) pour la recherche du tréponème, 857.
Botryomycose, 267.
Böttcher (cellule de), 163.
Botulisme, 733.
Bouchage d'un tube au coton, 96.
Bougies Berkefeld, 107.
— Chamberland, 107.
— filtrantes, 107.
— — (vérification d'une), 108.
— Garros, 107.
— Mallié, 107.
— (stérilisation des), 109.
Bouillon aux extraits de viande, 118.
— de cheval, de veau, de poule, 118.
— glycériné, 119.
— de haricots, 121.
— Martin, 119.
— peptoné salé (bouillon ordinaire), 117.
— de sang, 139.
— de sérum, 138.
— — glucosé, 139.
— sucrés carbonatés, 119.
— de viscères, 118.
Bovidés (microbes de la péripneumonie des), 1025.
Bovine (pasteurella), 662.
Bovo-vaccin de Behring, 774.
Bradsot du mouton, 729.
Brau et Denier (procédé de) pour la préparation de la toxine cholérique, 618.
Brebis (agalaxie contagieuse de la chèvre et de la), 1060.
Briot et Dopter (épreuve de la veine), 331.
Bronchialis spirochaeta, 921.
Broncho-pulmonaires (affections) des cobayes, 191.
Brück (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wasserman, 874.
Bruns et Hohn (procédé de), 339.
Buchner (dispositif de) modifié, 178.
— (procédé de), 178.
— (tube de), 178.
Buffle (pasteurella du), 662.
Burnet et Borrel (méthode de) pour la recherche du tréponème, 857.
Burri (procédé à l'encre de) pour la recherche du spirochœta-icterohemorragiæ), 902.
Butyrique fermentation), 28.
Cadavériques (prélèvements), 220.
Cages pour animaux de laboratoire, 189.
Calcicoles (bactéries), 18.
Calcifuges (bactéries), 18.
Calmette et Massol (réaction de fixation par la technique de), 868.
Cambier (procédé de) pour la séparation basée sur la mobilité, 500.
Cancers ulcérés (spirochètes des), 851.
Canine (pasteurella), 663.
Caprine (pasteurella), 663.
Capsules (coloration des), 243.
Caratés (parasites des), 839.
Carles et Barthélemy (procédé de) pour la concentration des kystes dans les selles, 951.
Carottes, milieu de culture, 129.
— (infusion de), 120.
Caséase, 27.
Castellani (épreuve de), 65.
— (procédé de) pour l'ensemencement du sang, 1092.
Castellani (spirochète de), 878.
— (tétra-vaccin de), 632.
— (treponema pallidulum), 878.
Cellulaire (théorie) de l'immunité, 46.
Cellule de Böttcher, 163.
— de Koch, 163.
Centres nerveux (autopsie des), 220.
— — et leurs enveloppes (inoculation dans les), 203.
Centrifugeur Jouan, 232.
Céphalo-rachidien (analyse du liquide), 1082.
Cérébro-méningé (pus), 323.
Chaînes latérales (théorie d'Ehrlich sur les), 55.
Chaleur (action de la) sur les bactéries, 19.
— (influence de la) sur la réceptivité, 30.
— (production de), 23.
— humide (stérilisation par la), 99.
— sèche (stérilisation par la), 95.
Chalumeau à gaz, 156.
Chamberland (appareil à filtration de), 111.
— (appareil) pour filtration par compression, 113.
— (autoclave), 99, 100, 104.
— (ballon-pipette), 133, 141.
— (bougies), 107.
Chambre-étuve, 147.
— humide de Ranvier, 163.
Chauveau (théorie de), 43.
Champignons parasites de la peau et du système pileux, 829.
— du pied de Madura, 802.
— parasites des teignes, 829.
Chancel (régulateur de), 149.
Chancre mou (bacille du), 597.
Chantemesse (milieu de), 496.
— (procédé de) pour la concentration par agglutination, 500.
— (sérum antityphique de), 514.
— (toxine typhique de), 487.
Charbon (culture de), 395.
— expérimental, 400.
— intestinal, 404.
— pulmonaire, 404.
— spontané, 398.

Charbon spontané chez l'animal, 399.
— — chez l'homme, 398.
Charbon symptomatique, 726.
Charbonneuse (bactéridie), 389.
— (fièvre), 399.
— (nature de l'infection), 403.
— (sang de lapin), 390.
Chauffage discontinu vers 56° (stérilisation par), 104.
— (stérilisation par) dans la vapeur d'eau à 100°, 102.
Chenils pour animaux de laboratoire, 189.
Cheval (anémie pernicieuse du), 1065.
— (influenza ou fièvre typhoïde du), 663.
— (streptocoque de l'anasarque du), 285.
— (streptocoque de la gourme du), 285.
— veau, poule (bouillon de), 118.
Chèvre (agalaxie contagieuse de la brebis et de la), 1060.
Chiens (maladie des), 1065.
(maladie du jeune âge et typhus des), 663.
Choléra (diagnostic bactériologique du), 620.
— expérimental, 615.
— des poules, 192, 657.
— — (coccobacille du), 657.
Choléra (sérodiagnostic du), 630.
Cholérique (toxine), 617.
— (vibrion), 601.
Christmas (procédé de) pour l'obtention de la gonotoxine, 358.
Cils (coloration des), 245.
— vibratiles, 8.
Cladothrix, 3.
Claudius (méthode de) pour la coloration des coupes, 256.
— (méthode de) pour la coloration des microbes sur frottis, 242.
Clavelée (virus de la), 1057.
Claveau, 1057.
Clinique (analyses bactériologiques appliquées à la), 1066.
Cloche à vide, 178.
Coagglutinations, 326.
Coagglutinines, 60, 63.
Cobayes (maladies des), 191.
— (préhension et contention du), 193.
Cocci (schéma de la division des), 9.
Coccidiose, 192.
Coccidium oviforme, 192.
Coccobacille de Bordet et Gengou, 592.
— du choléra des poules, 657.
— de la coqueluche, 591.
— (cultures), 592.
— — (diagnostic bactériologique de l'infection par le), 595.
— — (morphologie), 591.
Coccobacille(propriétés biologiques), 593.
— de Pfeiffer (recherche du) 588.
— de la pseudo-tuberculose zoogléique, 789.
Coccus, 2.
— de la fièvre de Malte, 364.
Cœur (ponction du) pour prélèvement du sang, 215.
Cohn (liquide de), 121.
Colibacille, 14, 530.
— (action pathogène), 535.
— (anomalies), 534.
— (cultures), 531.
— (diagnostic bactériologique de l'infection par le), 538.
— (morphologie), 531.
— (propriétés biologiques), 533.
— (réactions du) à l'égard des sérums, 533.
— (recherche et numération du) dans les eaux, 1108.
— (siège), 537.
— (tableau indiquant les caractères essentiels du), 478.
— (toxines), 537.
— (vaccination), 538.
— (vitalité), 533.
Colilysine, 35, 537.
Collage des coupes bactériologiques, 252.
Collodion (culture en sacs de), 164.
Colorant (choix du), 237.
— et solutions colorantes, 234, 235.
Coloration des bacilles acido-résistants, 242.
— des capsules, 243.
Coloration des cils, 245.
— d'une coupe bactériologique, 254.
— par l'éosine-bleu, 243.
— à l'état frais, 236.
— à l'état sec sur lames, — par la méthode de Gram, 240, 255.
— des microbes, 233.
— — en culture, 233, 238.
— — sur frottis, 239, 242.
— simple, 237.
— des spores, 244.
Complément, 47, 69.
— (fixation du), 70, 366, 370, 398, 454, 464, 596, 609.
— (fixation du) pour le Sporotrichum Beurmanni, 813.
— (mise en évidence de la sensibilisatrice par la réaction de fixation du), 70.
Conjonctivite aiguë contagieuse (bacille de la), 590.
Conradi-Drigalski (milieu de), 497.
— Kayser (procédé de) pour l'ensemencement du sang, 1093.
— (milieu de), 497.
— (toxine typhique de), 488.
Conservation des pièces, 250.
— des semences, 164.
Contention des animaux, 193, 194.
— (appareils à) de Latapie, 194.
Coqueluche (coccobacille de la), 591.
— (examen bactériologique de la), 592.
— (sérothérapie de la), 596.
— (vaccinothérapie de la), 596.
Cornevin, Arloing et Thomas (procédé de) pour l'immunisation contre le Bacillus Chauvæi, 731.
Corps réducteurs (éviction de l'oxygène par l'emploi de), 176.
Corpuscules métachromatiques de Neisser, 413, 415.
Costa, Troisier et Dauvergne (procédé de) pour la culture du bacille diphtérique, 441.

Cotoni (milieu de culture), 295.
Coupes bactériologiques, 249.
— (collage des), 252.
— (coloration des), 254.
— (conservation des), 250.
— (débitage des), 252.
Crachats (analyse bactériologique des), 1073.
— (bacille tuberculeux dans les), 1076.
— (culture du bacille tuberculeux des), 1078.
— (homogénéisation des), 1076.
— de pneumonie à pneumocoques, 292.
— (récolte des), 215.
— tuberculeux, 743.
Cramer (milieu de), 295.
Cropper et Harold Row (procédé de) pour la concentration des kystes dans les selles, 951.
Cryptococcus farciminosus, 818.
— — action pathogène 822.
— — (cultures), 819.
— — (diagnostic bactériologique), 822.
— — (immunité), 822.
— — (morphologie), 818.
Culex fasciatus, 908.
Cultures d'Actinomyces bovis, 796.
— de l'amibe dysentérique, 934.
— d'Aspergillus fumigatus, 824.
— de bacille du chancre mou, 598.
— — diphtérique, 414.
— — dysentérique du type Flexner, 555.
— — dysentérique Shiga, 544.
— — fusiforme, 736.
— — de la lèpre, 780.
— — morveux, 451.
— — paratyphique A, 517.
— — paratyphique B, 521.
— — de la peste, 639.
— — de Pfeiffer, 584.
— — pyocyanique, 272.
— — du tétanos, 667.
— — tuberculeux, 747.
— — typhique, 471.
— de Bacillus Chauvæi, 727.
Cultures de la bactéridie charbonneuse, 392.
— de charbon, 395.
— (coloration des microbes en), 233, 238.
— de colibacille, 531.
— (conservation des milieux de), 139.
— et ensemencement des microbes aérobies (procédés de), 153.
— (étuves pour), 143.
— (examen des microbes en), 233.
— en flacon (dispositif de Würtz), 180.
— de gonocoques, 352.
— sous l'huile de vaseline, 181.
— et isolement des microbes anaérobies, 172.
— de Leishmania Donovani, 1003.
— de Micrococcus melitensis, 365.
— (milieu de) albumineuses composées, 138.
— (milieux de) de Hiss, 294.
— — liquides, 161.
— — au sang, 295.
— — solides, 162.
— — spéciaux, 171.
— — de Truche, Cramer et Cotoni, 295.
Cultures sous le microscope, 163.
— pures de Mühlens, 842.
— — de Noguchi, 843.
— de pasteurella aviaire, 658.
— de pneumobacille, 384.
— sur pommes de terre (dispositif pour), 184.
— (procédés de) des anaérobies, 177.
— (procédés de) exceptionnels, 163.
— de proteus vulgaris, 581.
— (récipients de), 154.
— (régulateur pour), 143.
— de rouget du porc, 463.
— de saccharomyces albicans, 816.
— en sacs de collodion, 164.
— impures de Schereschewsky, 842.
— de spirilles de la fièvre récurrente, 882.
— du spirochète-ictéro hémorragique, 894.
Cultures de spirochète de la syphilis, 841.
— de Sporotrichum Beurmanni, 807.
— de staphylocoque, 259.
— de streptocoque, 274.
— de Streptothrix maduræ, 802.
— en strie (tube pour), 184.
— à températures dysgénésiques, 170.
— (tranvasement des milieux de), 139.
— de trypanosomes, 1011.
— « en tube cacheté » sous lanoline (Rosenthal), 181.
— en tubes profonds avec cubes d'albumine et sulfure de calcium, 181.
— tuées (vaccination par), 510.
— de vibrion cholérique, 604.
— dans le vide (étuves pour), 151.
Cuti-réaction, 768.
Cyanophycées, 2.
Cytase, 47, 50, 51, 69.
Cytorrhyctes luis, 840.
Danysz (virus), 528.
D'Arsonval (étuve), 147.
Debains, Jouan, Nicolle (procédé de), pour la préparation de la toxine dysentérique, 553.
Débitage des coupes bactériologiques, 251.
Debove (seringue de), 197-198.
De Christmas (procédé de) pour l'obtention de la toxine gonococcique, 358.
Delbet (procédé de) pour l'étude biologique des exsudats des plaies, 1069.
Deneke (vibrion de), 619.
Dengue (virus de la), 1055,
Denier et Brau (procédé de) pour la préparation de la toxine cholérique, 618.
Dermotrope (virus syphilitique), 849.
Dénitrification, 30.
Dermatoses des pays chauds (parasites des), 839.
Désassimilation des bactéries, 18.
Desmoulières (antigène de) 862.

Dessiccation des bactéries, 22.
Déviation du complément 70.
Déviation du complément (diagnostic de l'infection tuberculeuse par la) 771.
Dextrinase, 27.
Diastases, 26, 27.
Dieudonné (gélose de), 622.
Diphtérie aviaire, 423, 1027.
— (bacille) et bacilles diphtérimorphes, 430.
— (diagnostic bactériologique de la), 435.
— des poules, 193.
— (strepto), 430.
Diphtérique (bacille), 4, 410.
— (bacille) et bacille pseudodiphtérique, 430.
— (membrane), 436.
— sérum-anti), 4, 445.
— (toxine), 425.
Diplobacilles, 9.
Diplococcus crassus, 317, 333.
— intracellularis meningitidis, 313.
— pharyngis flavus I, 332.
— — — II, 332.
— — — III, 333.
— — sécus, 332.
— pneumoniæ, 292.
— reniformis, 724.
Diplocoques, 2, 9.
— de Talamon-Frænkel, 292.
Discomyces, 804.
Dispositif pour le transport des échantillons d'eaux, 1103.
Dopter (épreuve du péritoine de), 328.
Dourine (trypanosome de la), 1018.
Du Cazal et Vaillard (bacille de), 791.
Ducrey (bacille de), 597.
Dünschmann (milieu de), 498.
Dutton (trypanosome de), 1012.
Dysenterie amibienne expérimentale, 939.
— bacillaire, 542.
— — (diagnostic bactériologique de la), 565.
Dysenterie bacillaire, Shiga (action curative du sérum antidysenterique sur la), 575.
— — expérimentale, 549.
— — humaine (propriétés du sérum antidysentérique sur la), 575.
— — (sérum des sujets atteints de), 548.
Dysentérique (amibe), 924.
— (bacille), 542.
— (hépatite), 939.
— (toxine), 552.
Eaux (analyse bactériologique des), 1101.
— (analyse qualitative de l'), 1108.
— (— quantitative des), 1105.
— (dispositif pour le transport des échantillons d'), 1103.
— (épuration biologique des), 30.
— (feuilles de renseignements pour l'analyse bactériologique de l'), 1103.
— (filtration de l'), 112.
— (flore bactérienne des), 1113.
— (interprétation des résultats dans les analyses des), 1112.
— de levure, 121.
— de malt, 120.
— peptonée (milieu de culture), 119.
— (prélèvement des), 1101.
— (principes généraux pour l'analyse bactériologique des), 1104.
Eberth (bacille d'), 469.
Ébullition (procédé d'éviction de l'oxygène), 172.
— (stérilisation par), 105.
Écouvillons coudé et droit, 214.
Ectoplasme, 925.
Eczema marginatum (parasite de l'), 835.
Ehrlich (méthode de) pour la coloration des bacilles acido-résistants, 242.
— (procédé d') pour la coloration du bacille de Koch, 747.
— (—) pour le titrage du sérum antidiphtérique, 448.
Ehrlich (théorie des chaînes latérales d'), 55.
Eijkman (procédé de) pour la recherche et la numération du colibacille, 1110.
Éléments figurés (résorption des), 46.
El Tor (vibrions d'), 628.
Empoisonnements alimentaires bacilles des) 520.
Émulsion bacillaire, 766.
Encéphalite épidémique, 1045.
Encombrement (influence de l') sur la réceptivité, 39.
Endo (milieu d'), 494.
Endomyces albicans, 815.
Endoplasme, 925.
Endospores, 11.
— (formation d') dans un bacille, 11, 12.
Endotoxines, 34.
Endotoxines de Besredka, 489.
Ensemencements, 155.
— et cultures des microbes aérobies, 153.
— par étalement, 161.
— au fil de platine, 158.
— en gélatine en boîtes de Petri, 166.
— en gélose fondue, 168.
— des milieux de culture solides en strie (dispositif pour), 183.
— — liquides par piqûre (dispositifs pour), 182.
— à la pipette, 160.
— de tube liquide à tube liquide, 158.
Entamœba coli, 940.
— (cycle évolutif d'), 943.
— dysenteriæ et d'entamœba coli (tableau récapitulatif des caractères différentiels d'), 945.
— histolytica, 924.
— limax, 945.
— dysenteriæ (propriétés biologiques), 934.
— — (vitalité), 937.
— tetragena, 925.
Entérocoque, 309.
— (action pathogène), 311.

Entérocoque (cultures), 310.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 312.
— (morphologie), 309.
— (propriétés biologiques), 311.
— (siège), 311.
— (toxines), 311.
Entonnoir à filtration chaude, 127.
Enzymes, 26.
Eosine-bleu (coloration par l'), 243.
Eppingeri Nocardia, 804.
Epidermophytose inguinale, 835.
Épreuve de Castellani, 65.
— du péritoine avec sérum antiméningococcique et paraméningocoque, 328.
Épuisement du milieu (théorie de l'), 43.
Épuration biologique des eaux, 30.
Équine (pasteurella), 663.
Erlenmeyer (fiole d'), 153.
Erythrasma (parasites de l'), 838.
Escherich (bacille d'), 530.
Esmarch (gélatine en tube d'), 166.
Espèce animale (choix de l') à inoculer, 210.
Étalement (ensemencement par), 161.
Entamœba nana, 946.
Étuve (appareil improvisé pour remplacer l'), 150.
— d'Arsonval, 147.
— à coagulation de sérum, 132.
— pour cultures dans le vide, 151.
— à destinations spéciales, 151.
— chauffées à l'électricité, 149.
— — au gaz, 144.
— de Hearson, 151.
— — pour cultures à basse température, 152.
— opsonique de Hearson,
— chauffées au pétrole, 150.
— et régulateurs, 143, 145, 148.
— de Roux, 144.
Evans (trypanosome d'), 1018.
Examens bactériologiques (pièces chirurgicales destinées aux), 215.
— microscopique et coloration des microbes, 233.
— des microbes sans coloration à l'état humide, 233.
— ultramicroscopiques (technique des), 230.
Excreta (recherche du bacille typhique dans les), 507.
Expectoration (procédé pour recueillir les crachats), 215.
Exudats des muqueuses (prélèvement des), 214.
— pleuraux, péritonéaux, méningés, articulaires, 213.
— des plaies (analyse bactériologique des), 1066.
— — (biologie), 1069.
— — (cultures), 1067.
— purulents (analyse des), 1086.
— séro-fibirneux (cultures), 1087.
Extraction de l'air par le vide (dispositif pour), 175.
— de l'oxygène par le vide, 174.
Extraits de viande (bouillon aux), 118.
Falière (procédé de) pour la coloration du bacille de Löffler, 414.
Farciminosus cryptococcus, 818.
Fausse membrane diphtérique (coupe de), 422.
— — — (frottis de), 436.
Favus, 837.
Faweus (milieu de), 498.
Fermentations, 27.
— acétique, 29.
— alcoolique, 28.
— ammoniacale, 29.
— butyrique, 28.
— lactiques, 28.
— des sucres par le pneumocoque, 320.
Ferments nitreux, 30.
— nitriques, 30.
Ferran (procédé de) pour la vaccination anticholérique, 631.
— (vaccin anticholérique de), 633.
Ficker et Hoffmann (procédé de) d'enrichissement dans un milieu électif, 501.
— (—) pour la concentration par précipitation, 500.
Fièvre aphteuse (évolution du parasite de la), 987.
— aphteuse (virus de la), 1058.
— automnale (évolution du parasite de la), 987.
— charbonneuse, 399.
— fluviale du Japon, 1038.
— jaune (agent pathogène de la), 907.
— de Malte (coccus de la), 364.
— quarte (évolution du parasite de la), 986.
— — (parasite de la), 975.
Fièvre récurrente (diagnostic bactériologique), 887.
— — (sérothérapie de la), 888.
— — (spirille de la), 880.
Fièvre scarlatine, 1039.
— tachetée des Montagnes Rocheuses, 1037.
— du Texas, 997.
— tierce (parasite de la), 969.
— — bénigne (évolution du parasite de la), 984.
— — maligne (parasite de la), 978.
Fièvre des tranchées (parasite de la), 914.
— de trois jours ou fièvre à pappatacis, 1054.
— tropicale (évolution du parasite de la), 987.
— — (parasite de la), 978
Fièvre typhoïde du cheval, 663.
— — (reproduction expérimentale de la) par l'ingestion, 485.
— — (séropronostic de la), 507.
— — (sérothérapie de la), 514.
— — (vaccinothérapie de la), 513.
Fil de platine (ensemencements au), 158.
— — (pour ensemencements), 155.
Filtrantes (bougies), 107.
Filtrants (microbes), 1024.

Filtrants (virus) divers, 1064.
Filtration (appareils de), 109.
— (appareil de) de Chamberland, 111.
Filtration par compression (appareil Chamberland pour), 113.
— (dispositif à double usage pour), 110.
— de l'eau, 112.
— chaude (entonnoir à), 127.
— (appareil improvisé pour), 109.
— (appareil à) de Jouan, 112.
— (appareil à) de Martin, 111.
— de petites quantités de liquide, 111.
— sous pression, 112.
— (séparation des microbes par), 171.
— (stérilisation par), 106.
Filtre à bourre de Miquel, 1122.
— dit pour essai de Martin, 111.
— de Kitasato, 111.
Finkler-Prior (vibrion de), 619, 628.
Fiole d'Erlenmeyer, 153.
— de Gayon, 153.
— plates de Roux, 154.
— de Vivien, 154.
Fixateur, 69.
— spécifique, 51.
Fixation du complément, 70, 366, 370, 398, 454, 464.
— des pièces bactériologiques, 249.
Flacherie des vers à soie, 11.
Flacon compte-gouttes, 235.
— répartiteur, 141.
— pour recueillir le sang, 130.
Flambage au four, 95.
Fleig et Sicre (réaction de) pour la recherche de l'indol, 477.
Flexner (bacilles dysentériques du type), 555.
Flore bactérienne des eaux, 1113.
Foa (pneumocoque hémorragique de), 303.
— (pneumocoque œdématogène de), 303.
Foin (infusion de), 120.
Follicules tuberculeux, 761.
Fontana-Tribondeau (procédé de nitration de) pour la recherche du tréponème, 858.
Four Pasteur, 97.
Fraenkel (tube de), 186.
Frankland (procédé de) pour la filtration de l'air, 1122.
Friedländer (pneumobacille de), 381.
Friedmann (bacille de), 778.
Frœnkel et Voges (liquide de), 122.
Froid (action du) sur les bactéries, 20.
— (influence du) sur la réceptivité, 39.
Gablet (procédé de) pour la coloration du bacille tuberculeux, 747.
Gärtner (bacille de), 529.
Gaethgens (milieu de), 495.
Gaillard, Lannelongue et Achard (sérum antituberculeux de), 776.
Gale des lapins, 191.
Galeotti et Lustig (procédé de) pour la préparation de la toxine pesteuse, 642.
Gamètes, 959.
Gamogoniques (kystes) de Entamœba coli, 942.
Gangrène gazeuse, 686.
Garros (bougie), 107.
Gaveurs de pigeons (affection des), 825.
Gayon (fiole de), 153.
Gaz inertes (éviction de l'oxygène par substitution de), 173.
Gazeuse (gangrène), 686.
Gélatine-agar, milieu de culture, 128.
Gélatine (Ensemencement en) en boîtes de Petri, 166.
— milieu de culture, 123, 124.
— en tube d'Esmarch, 168.
Gélose-ascite glucosée tournesolée, 340.
— maltosée tournesolée, 341.
— de Dieudonné, 622.
— fondue en boîte de Petri (ensemencements en), 168.
— glucosée glycérinée (milieu de culture), 128.
— glycérinée (milieu de culture), 128.
Gélose de Goldberger, 624.
— (milieu de culture), 125.
— (préparation de la), 139.
— sanglante, 139.
— sérum, 138.
— (streptocoque sur), 276.
— sucrées, milieu de culture, 128.
Gengou et Bordet (coccobacille de), 592.
Georgi et Sachs (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 874.
Germes d'association secondaire dans la diphtérie (recherche des), 438.
— (porteurs de), 439.
Giemsa (méthode de) pour la recherche du tréponème, 855.
— (procédé de) pour la coloration de l'hématozoaire du paludisme, 967.
Glycériné (bouillon), 119.
Glycérinée (gélose) milieu de culture, 128.
Goldberger (gélose de), 624.
Gonocoque, 350.
— (action pathogène), 356.
— (aspect microscopique), 350.
— (coloration), 351.
— (culture), 352.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 359.
— (examen microscopique direct), 360.
— (identification), 361.
— (morphologie), 350.
— dans le pus blennorragique, 350.
— (propriétés biologiques), 354.
— (réactions biochimiques), 354.
— (réactions vis-à-vis de l'antisérum), 355.
— (recherche du), interprétation des résultats, 361.
— (séro-diagnostic), 361.
— (sérothérapie), 362.
— (toxine), 358.
— (vaccinothérapie), 362.
— (vitalité), 354.
Gonotoxine de Christmas, 358.
Goubault (procédé de) pour la coloration de l'hématozoaire du paludisme, 968.

Gourme du cheval (streptocoque de la), 285.
Gram (méthode de) pour la coloration des coupes bactériologiques, 255.
— (méthode de) pour la coloration des microbes, 240.
Granulie sporotrichosique généralisée du rat, 809.
Griffon, Philibert, Bezançon (procédé de) pour l'analyse bactériologique du sang, 1091.
Grippe, 1052.
Gypséums, 834.
Haffkine (procédé de) pour la vaccination anticholérique, 631.
— (vaccin anticholérique de), 634.
Hansen (bacille de), 779.
Haricots (bouillon de), 121.
Harold Row et Cropper (procédé de) pour la concentration des kystes dans les selles, 951.
Hauser (procédé de) pour la coloration du bacille de Koch, 746.
Hearson (étuve), 150.
— (étuve) pour cultures à basse température, 151-152.
— (étuve oposonique de), 80.
Hecht (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 871.
Heidenhain (méthode de) pour la coloration de l'Entamœba histolytica, 928.
— (méthode de) pour la coloration des kystes amibiens intestinaux, 953.
Hématozoaires, 193.
— du paludisme, 958.
— — (action pathogène expérimentale), 990.
— — (cultures), 990.
— — (évolution de l'), 959.
— — (morphologie), 958.
— — (recherche de l'), 991.
— — (tableau de l'évolution de l'), 962.
— (caractères communs aux trois types morphologiques d'), 963.
— (caractères spéciaux à chacun des trois types morphologiques d'), 969.
Hématozoaires de la malaria (unité ou pluralité des), 989.
— (rapports entre l'évolution de l') et la courbe fébrile des paludéens, 983.
Hémoculture, 1091.
Hémoglobinophilie, 585.
Hémoglobinurie du bœuf, 997.
Hémolysines, 35, 265.
— (production des) par les vibrions cholériques, 608.
Hémorragiques (septicémies), 655.
Hépatite dysentérique, 939.
Hérelle (bacille d'), 563.
Hérédo-syphilis, 844.
Herman (procédé d') pour la coloration du bacille de Koch, 747.
Hétéro-agglutinines, 63.
His (milieu de culture de), 294.
Hiss (bacilles dysentériques du type Y de), 557.
Hoffmann (bacille d'), 432.
— et Ficker (procédé de) d'enrichissement dans un milieu électif, 501.
Hog-cholera, 662.
— — (bacille du), 527.
— — (virus du), 1060.
Hollande (procédé de) pour la coloration de l'hématozoaire du paludisme, 967.
Homogénéisation des crachats, 1076.
Horse-sickness, 1065.
Huile de vaseline (culture sous l'), 181.
Humeurs (théorie antitoxique des), 45.
— (théorie bactéricide des), 43.
— (théorie du pouvoir atténuant des), 44.
Humorale (théorie) de l'immunité, 43.
Hydrogène (appareil générateur d'), 174.
— (appareil de Roux pour produire l'), 173.
— (vide avec lavage à l'), 176.
Hygiène (analyses bactériologiques appliquées à l'), 1101.
Ictéro-hémorragique (spirochétose), 889.
Ictéroïdes (leptospira), 907.
Identification du gonocoque, 361.
— du méningocoque, 538.
— du méningocoque (interprétation des résultats), 361.
— des microbes, 76.
— du Micrococcus melitensis, 569.
— du pneumobacille, 587.
Immunité, 39, 41.
— acquise, 42, 50.
— dans les maladies infectieuses, 49.
— naturelle, 41, 48.
— (mécanisme de l'), 42.
— (théorie cellulaire de l'), 46.
— (théorie des chaînes latérales d'Ehrlich, 55.
— (théorie humorale de l'), 45.
— (théorie de M. Nicolle), 58.
— (théorie physico-chimique de l'), 55.
Immunité contre les toxines, 53.
Immun-protéidine pyocyanase, 379.
— sérum (réactions du coccobacille de la coqueluche vis-à-vis de l'), 593.
Inclusion à la paraffine, 250.
— — (technique de l'), 251.
— en sacs de collodion, 205, 211.
— — de roseaux, 207.
Incubation et observation ultérieure, 161.
Indice opsonique, 82.
Indiella Mansoni, 803.
— Reynieri, 803.
Indol (réaction de Salkowsky), 477.
— (recherche de l'), 477.
Infection, 36.
— par l'Aspergillus fumigatus, 825.
— par le bacille du chancre mou (diagnostic bactériologique de l'), 600.
— du bacille du rouget du porc (diagnostic bactériologique de l'), 465.
— charbonneuse (diagnostic de l'), 404.
— — (nature de l'), 403.
— par le coccobacille de la

coqueluche (diagnostic bactériologique de l'), 595.
Infection par le colibacille (diagnostic bactériologique de l'), 538.
— (conditions relevant du microbe), 37.
— entérococcique (diagnostic bactériologique de l'), 312.
— gonococcique (diagnostic bactériologique de l'), 359.
— (influence du terrain sur l'), 39.
— (influence du traumatisme sur l'), 40.
— lépreuse (diagnostic bactériologique de l'), 783.
— mélitococcique (diagnostic bactériologique de l'), 368.
— méningococcique (diagnostic de l'), 333.
— par le Micrococcus melitensis (conditions de l'), 366.
— morveuse expérimentale, 455.
— paratyphique A (diagnostic bactériologique de l'), 519.
— — B (diagnostic bactériologique de l'), 526.
— par le bacille de la peste (diagnostic bactériologique de l'), 647.
— par le pneumobacille (diagnostic bactériologique de l'), 386.
— pneumococcique, 304.
— par le Proteus vulgaris (diagnostic de l'), 582.
— pyocyanique (diagnostic bactériologique de l'), 380.
— (rôle de la porte d'entrée des microbes), 38.
— staphylococcique (diagnostic de l'), 266.
— streptococcique (diagnostic de l'), 282.
— tétanique (diagnostic de l'), 680.
— — (mécanisme de l') dans les conditions naturelles, 678.
— à tétragène, 290.
— trichophytique (évolution générale de l'), 831.
— tuberculeuse (diagnostic bactériologique de l'), 766.
Infection typhoïdique (diagnostic bactériologique de l'), 501.
— typhoïdes humaines (application de la séro-réaction au diagnostic des), 502.
— par le vibrion septique dans les conditions naturelles, 695.
Influenza du lapin (bacille de l'), 192.
Infusion de foin et de paille, 120.
— de pommes de terre ou de carottes, 120.
— de tourailloins, 120.
Ingestion, 208, 211.
Inhalation, 207, 211.
Influenza du cheval, 663.
Injection intra-artérielle, 203.
— intracérébrale, 204.
— intracraniennes, 211.
— intramusculaire, 201.
— intrapéritonéale, 204, 211.
— intrapleurale, 204.
— intratrachéale, 207.
— intraveineuse, 201, 211.
— de malléine, 456.
— dans le rectum, 209.
— de sérum et anaphylaxie, 88.
— sous-cutanée, 201, 211.
— sous-durale, 203.
— dans le tube digestif, 209.
Inoculations, 188.
— aux animaux, 171, 188-196.
— (appareil pour), 198.
— dans les centres nerveux ou leurs enveloppes, 203.
— (choix de l'espèce à inoculer et mode d'), 210, 211.
— endermique, 201, 211.
— expérimentale et staphylocoque, 262.
— (matériel pour), 196.
— intra-oculaire, 203.
— intrapéritonéale, 204.
— intraveineuse, 211.
— sous-cutanées, 211.
— superficielles, 201.
— à la surface des muqueuses, 201.
— (technique des), 200.
— dans les tissus cellulaire et musculaire, 201.
Inoculations dans la vésicule biliaire, 209.
— dans les voies biliaires, 209.
— dans les voies circulatoires, 201.
— dans les voies digestives, 208.
— dans les voies respiratoires, 207.
Insertion intrapéritonéale, 204.
— sous la peau, 201.
Insuffisance alimentaire (influence de l') sur la réceptivité, 39.
Intestinale (amibiase), 947.
— (charbon), 404.
Intra-artérielle (injection), 203.
Intracérébrale (injection), 204.
Intramusculaire (injection), 201.
Intra-oculaire (inoculation), 203.
Intrapéritonéale (injection), 204.
Intrapleurale (injection), 204.
Intratrachéale (injection), 207.
Intraveineuse (injection), 201, 211.
Inulase, 27.
Invisibles (microbes filtrants dits), 1024.
Isolement à l'aide des milieux solides préalablement liquéfiés, 166.
— des anaérobies, 184.
— des microbes aérobies, 164, 172.
— — — (artifices de séparation), 170.
— — — (méthodes générales), 165.
— — — (méthodes spéciales), 170.
— — — (séparation par filtration), 171.
Isolement (procédé de Veillon pour l'), 169.
— à la surface des milieux solides par dilution, 169.
— à la surface des milieux solides par épuisement, 168.

Jacobson (procédé de) pour l'homogénéisation des crachats, 1076.
Japon (fièvre fluviale du), 1038.
Jaune (agent pathogène de la fièvre), 907.
Jæger (pseudo-méningocoque de), 317, 333.
Jouan (appareil à filtration de), 112.
Jouan, Nicolle, Debains (procédé de) pour la préparation de la toxine dysentérique, 553.
Jouan (stérilisateur à air de), 98.
Jousset (technique de) pour l'analyse bactériologique du sang, 1091.
Jungano (staphylocoque de), 724.
Kala-azar indien, 1002.
Khegallensis (vibrion), 628.
Kindborg (milieu de), 496.
Kitasato (filtre de), 111.
Kitt et Norgaard (procédé de) pour l'immunisation contre le Bacillus Chauvæi, 731.
Klaussner (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 874.
Klebs-Löffler (bacille de), 410.
Koch (bacille de), 741.
— (boite de), 133.
— (cellule de), 163.
— (expériences de) relatives à l'action pathogène du vibrion cholérique, 615.
— (plaques de), 168.
— (tuberculine ancienne de), 762.
Kolle (procédé de) pour la vaccination anticholérique, 631.
Kraus (réaction de), 66.
Kraus et Biedl (théorie de) de l'anaphylaxie, 93.
Kühne (procédé de) pour la coloration du bacille de Koch, 746.
Kystes, 931.
— amibiens (recherche des), 950.
— (concentration des) dans les selles, 951.
Kystes gamogoniques de l'Entamœba coli, 942.
— hydatique (anaphylaxie au liquide de), 90.
— schizogoniques, 943.
Lacomme (procédé de) pour la recherche et la numération du colibacille, 1110.
— (tube de), 180.
Lactique (fermentation), 28.
Lafforgue (procédé de) pour l'ensemencement du sang, 1093.
Lagriffoul et Rodet (sérum antityphique de), 515.
— — et Wahly (toxine typhique de), 487.
Lait tournesolé, milieu de culture, 122.
Lamblia intestinalis (kystes de), 956.
Lames et lamelles, 232.
Lannelongue, Achard et Gaillard (sérum antituberculeux de), 776.
Lanoline (culture en tube cacheté sous), 181.
Lapins (maladies des), 191.
— (préhension et contention du), 193.
Latapie (appareil à contention de), 194.
— (appareil de) pour la récolte du sang, 217.
— (appareil de) pour la récolte du sérum, 132.
— et Levaditi (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 872.
Laveran (hématozoaires de), 958.
— (procédé de) pour la coloration de l'hématozoaire du paludisme, 967, 968.
— (procédé de) pour la filtration de l'air, 1124.
Leclainche et Vallée (procédé de) pour l'immunisation contre le Bacillus Chauvæi, 732.
Leishman (procédé de) pour la coloration de l'hématozoaire du paludisme, 967,
Leishmania, 1002.
— Donovani, 1002.
— — (cultures), 1003.
— — (habitat dans l'organisme), 1004.
Leishmania Donovani (mode d'infection, hôte intermédiaire), 1005.
— — (morphologie), 1002.
— — (recherche du parasite), 1005.
Leishmania furonculosa, 1008.
— infantum, 1006.
Lentz et Tietz (milieu de), 498.
Lepidophyton, 839.
Lèpre (bacille de la), 779.
— (diagnostic bactériologique de l'infection de la), 783.
— des rats, 192.
— (thérapeutique bactériologique de la), 785.
Léproïde (maladie) des rats, 785.
Leptospira icteroïdes, 907.
— — (action pathogène expérimentale), 910.
— — (cultures), 909.
— — (essais de sérothérapie), 913.
— — (expériences de la commission américaine, 907.
— — (morphologie), 909.
— — (propriétés biologiques), 909.
— — (siège du) dans l'organisme, 910.
Lequeux (régulateur à action directe), 146.
Leucocidines, 36, 265.
Levaditi et Latapie (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 872.
— (technique de) pour la recherche et la coloration du tréponème, 860.
Levures, 24.
Levy et Léobardy (procédé de) pour la recherche du Spirochæta icterohemorragiæ, 902.
Lewis (trypanosome de), 1020.
Lipochromes, 25.
Liquide céphalo-rachidien (analyse bactériologique du), 1082.
— — (recherche du méningocoque dans le), 333.
Liquide de Cohn, 121.

Liquides non stériles (dispositif pour répartition des), 141.
— de Frænkel et Voges, 122.
— de kyste hydatique (anaphylaxie au), 90.
— d'Ouchinsky, 121.
— de Pasteur, 121.
— de Raulin, 16.
Liverpool virus, 528.
Leobardy et Lévy (procédé de) pour la recherche du Spirochæta icterohemorragiæ, 902.
Löffler (milieu de), 498.
— (procédé de) pour la recherche du tréponème, 857.
— (bacille de), 410.
— (bacille de), milieu, 419.
— (recherche du bacille de), 435.
— (sérum peptoné de), 416.
Luciférine, 24.
Lumière (action de la) sur les bactéries, 21.
— (production de, 23).
Lumière (appareil) pour la récolte du sérum, 218.
Lymphe, 762.
Mac-Fadyan et Rowland (toxine typhique de), 488.
Macération de viande, 120.
— — (préparation de la), 120.
Madurella mycetomi, 803.
Mal de Caderas (trypanosome du), 1019.
Maladies des animaux de laboratoire, 191.
— de Bollinger, 662.
— infectieuses (diagnostic des) par la réaction de fixation de Bordet-Gengou, 76.
— — (immunité dans les), 48.
Maladie (influence de l'état de) sur la réceptivité, 39.
— léproïde des rats, 785.
— perlée, 753.
— pyocyanique expérimentale, 371.
— du sérum, 89.
Malaria (unité ou pluralité des hématozoaires de la), 989.
Malassez (plateau grillagé avec mors de), 195.
Malassezia furfur, 838.
Mallié (bougie), 107.
Malléine, 35.
— (anaphylaxie à la tuberculine et à la), 90.
— (formation de la), 452.
— (injections de), 456.
— (injection de) à l'animal, 452.
— (préparation de la), 453.
— (réaction du bacille morveux à la), 459.
Maltase, 27.
Mammite streptococcique de la vache (streptocoque de la), 285.
Mancha, 729.
Maragliano (sérum antituberculeux de), 776.
Mac Conkey (milieu de) pour l'isolement du bacille dysentérique, 567.
Marchoux (sérum anticharbonneux de), 408.
Marginale (anaplasma), 1000.
Marginatum (eczéma), 835.
Marino (méthode de) pour la recherche du tréponème, 856.
— (procédé de) pour la coloration de l'hématozoaire du paludisme, 967.
— (méthode de) pour l'isolement des anaérobies, 185.
Marmier (procédé de) pour l'obtention de toxine charbonneuse, 397.
Marmorek (sérums de), 284.
— (sérum antituberculeux de), 776.
Martin (appareil à filtration de), 111.
— (bouillon), 119.
— (filtre dit pour essai de), 111.
— (procédé de), pour la toxine diphtérique, 427.
— et Loiseau (procédé de), pour la culture du bacille diphtérique, 440.
Massouah (vibrion de), 628.
Massol et Calmette (réaction de fixation par la technique de), 868.
Matras Pasteur, 153.
Maurer (taches de), 980.
Meinicke (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 875.
Mélanogène (bacille), 375.
Mélitococcie (diagnostic bactériologique de la), 368.
— (recherche du germe spécifique de la), 368.
— (séro-diagnostic de la), 369.
Méningite aseptique, 1084.
— cérébro-spinale expérimentale, 323.
— — grave (liquide céphalo-rachidien), 316.
Méningite épigastrique (agent pathogène de la), 818.
— paraméningococcique (liquide céphalo-rachidien), 331.
— cérébro-spinale méningococcique (liquide céphalo-rachidien), 315.
— sérique, 89.
— tuberculeuse, 1084.
Méningocoque, 313.
— (action pathogène expérimentale), 322.
— (agglutination), 324, 342.
— (bactériolyse), 327.
— (boîte de Petri), 337.
— (caractères distinctifs des germes similaires), 339.
— (— spéciaux à chacune des variétés de), 324.
Méningocoques (coagglutinations), 326.
— (cultures), 317.
— (culture sur gélose-ascite), 316.
— (diagnostic bactériologique de l'infection par), 333.
— (épreuve du peritoine avec sérum antiméningococcique et le), 322.
— (examen microscopique), 334.
— (historique), 313.
— (identification), 338.
— (identification de Jæger), 335.
— dans le liquide céphalo-rachidien, 333.
— dans le mucus rhino-pharyngé, 321, 334.
— (morphologie), 314.
— (précipitation), 327.
— (propriétés biologiques), 319.
— (pseudo-), 331.
— (recherche du), 333.

Méningocoque (sérothérapie), 348.
— (siège du) dans l'organisme humain, 320.
— (toxines), 323.
— (vitalité), 319.
Mensuration des microbes, 226.
Metchnikoff (expériences de) relatives à l'action pathogène du vibrion cholérique, 615.
— Roux et Salimbeni (procédé de) pour la préparation de la toxine cholérique, 617.
Metchnikovi (vibrio), 619.
Méthode de Claudius (coloration des coupes par la), 242.
— pour la coloration des microbes sur frottis, 239.
— d'Ehrlich pour la coloration des bacilles acido-résistants, 242.
— de Gram (coloration des coupes par la), 240, 255.
Microbacillus prodigiosus, 679.
Microbes aérobies, 13.
— — (isolement des), 165.
— — (procédés de culture et ensemencement des), 153.
Microbes anaérobies, 14.
— — (culture et isolement des), 172.
— — (procédés de culture des), 177.
— — des processus fétides et gangréneux, 720.
— (caractères généraux des), 1.
— en culture (examen des), 233.
— (coloration des), 233, 238, 240.
— (examen des) sans coloration à l'état humide, 233.
— (examen microscopique et coloration des), 233.
— (fermentations des), 27.
— filtrants dits «invisibles», 1024.
— sur frottis (coloration des), 239, 422.
— (identification des), 76.
— (influence de la quantité des) dans le déterminisme de l'infection, 38.
Microbes (mensuration des), 225, 226.
— de la péripneumonie des bovidés, 1025.
— (physiologie des), 9.
— (place des) parmi les êtres vivants, 1.
— pathogènes (recherche des) dans les eaux, 1111.
— (reproduction des) par scissiparité, 9.
— (reproduction des) par sporulation, 10.
— (résistance des) à la chaleur, 170.
— (rôle de la porte d'entrée des) sur l'infection, 38.
— ultramicroscopiques, 1024.
Microbiennes (associations), 23, 28.
Micrococcus catarrhalis, 331.
— fœtidus, 724.
— lanceolatus, 292.
— melitensis, 364.
— — (action pathogène expérimentale), 367.
— — (conditions de l'infection naturelle par le), 366.
— — (cultures), 365.
— — (diagnostic bactériologique de la mélitococcie), 368.
— — (morphologie), 364.
— — (propriétés biologiques du), 365.
— — (sérothérapie), 370.
— — (siège dans l'organisme), 366.
— — (vaccination), 370.
— — (vitalité et résistance du), 365.
— paramelitensis, 370.
— Pasteuri, 292.
— pharyngis cinereus, 332.
— tetragenes, 287.
— — albus, 288.
— ureæ, 1096.
Microcoques, 2.
Microcytase, 51.
Microgamètes, 960.
Microgamétocytes, 960.
Microphages, 50.
Microscope (constitution du), 222.
— (cultures sous le), 163.
Microscope (entretien du), 227.
— (examen avec l'objectif à immersion), 224.
— (examen avec l'objectif à sec), 225.
— (grossissement), 226.
— (mensuration), 225, 226.
— (mode d'emploi du), 224.
— et ultramicroscope, 222.
Microsporon, 835.
— Audouini, 835.
— du chien, 835.
— (cultures), 837.
— equinum, 835.
— fulvum, 835, 837.
— lanosum, 835.
— tardum, 835.
— du type animal, 835.
— du type humain, 835.
Microsporum furfur, 838.
— minutissimum, 839.
Microtome de Minot, 253.
Milieux albumineux composés, 138.
— non albumineux liquides, 117.
— — solides, 123.
— artificiels, 16.
— de culture, 16.
— — albumineux purs, 129.
— — animaux, 117.
— — artificiels, 117, 123.
— — de Barsiekov, 473.
— — (classification des), 116.
— — chimiquement définis, 121.
— — (conservation des), 139.
— — (dispositifs applicables indifféremment aux milieux solides et aux milieux liquides, 178.
— — liquides (dispositifs pour), 179.
— — liquides (dispositif pour ensemencement des) par piqûre, 182.
— — naturels, 15, 116, 122
— — (préparation des), 117.
— — au sang, 295.
— — solides animaux, 123.
— — solides (dispositifs pour ensemencement des) en strie, 183.
— — solides naturels, 128.
— — spéciaux, 171.
— — (transvasement des), 139, 140.

Milieux de culture végétaux, 117, 120.
— d'enrichissement du bacille typhique, 493.
— de His (culture du pneumocoque), 294.
— d'isolement du bacille typhique, 493.
— naturels, 15.
— stériles (transvasements des), 140.
— de Tarozzi, 182.
— de Truche, Cramer et Cotoni, 295.
Minot (microtome de), 253.
Miquel (appareil de) pour prélever les eaux en profondeur, 1102.
— (ballon diluteur de), 1123.
— (filtre à bourre de), 1122.
— (procédé de) pour la filtration de l'air, 1123.
Mistbacillus, 786.
Mœller (procédé de) pour la coloration des spores, 244.
Montagnes Rocheuses (virus de la fièvre tachetée des), 1037.
Moreschi (toxine typhique de), 488.
Morgan (bacilles de), 562.
Morve (bacille de la), 450.
— (diagnostic bactériologique de la), 458.
— (sérodiagnostic de la), 460.
Morveuse (infection) expérimentale, 455.
Moule à paraffine, 252.
Mouton (bradsot du), 729.
— (pneumo-entérite du), 662.
Much (procédé de) pour la coloration du bacille de Koch, 746.
Mucus rhino-pharyngé (méningocoques dans le), 336.
— —(prélèvement de) dans le rhino-pharynx, 336.
Muguet, 815.
Mühlens (cultures de), 842.
Müller (procédé de) pour la concentration par précipitation, 500.
Mycétome, 802.
Mycobacterium putricolens, 788.
Nagana (trypanosome du), 1017.
Nastine, 785.
Nécrose (bacille de la), 792.
Neisser (corpuscules métachromatiques de), 413, 415.
— (procédé de) pour la coloration du bacille de Löffler, 413.
Neufeld (phénomène de), 296.
Neurotrope (virus syphilitique), 849.
Neutuberkulin, 766.
Nicolaïer (bacille de), 665.
Nicolaysen (procédé de), toxine du gonocoque, 358.
Nicolle (théorie de) de l'anaphylaxie, 92.
— (théorie de) de l'immunité, 58.
Nicolle, Debains et Jouan procédé de) pour l'isolement du méningocoque, 335.
— Debains et Jouan (procédé de) pour la préparation de la toxine dysentérique, 553.
—et Morax (procédé de) pour la coloration des cils, 247.
Nitrières artificielles, 30.
Nitrification, 29.
Niveums, 834.
Nocardia Eppingeri, 804.
Nocard-Preisz (bacille de), 791.
— et Roux (procédé de) pour le prélèvement de sérum sur les grands animaux, 130.
Norgaard et Kitt (procédé de) pour l'immunisation contre le bacillus Chauvæi, 731.
Noguchi (cultures de), 843.
— (milieux de) pour la culture du spirochæta icterohemorragiæ, 894.
— (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 873.
— (recherches de) sur le Leptospira icteroides, 908.
Noyau, 6.
Obermeier (spirille d'), 852.
Œuf, milieu de culture, 137, 138.
Oïdium albicans, 815.
Oiseaux (maladies des), 192.
— (trypanosomes des),1022.
Ookinète, 960.
Ocspora aurea, 827.
— asteroides, 827.
— buccalis, 827.
— destructor, 828.
— japonica, 827.
— lacertæ, 828.
— lingualis, 827.
— luteola, 827.
— maduræ, 802.
— (les) dans le milieu extérieur, 828.
— pulmonalis, 827.
Oosporoses, 827.
— animales, 828.
— buccale, 827.
— humaines, 827.
— oculaire, 827.
— œsophagienne, 827.
— pulmonaire, 827.
— suppuratives, 827.
Ophtalmo-réaction, 768.
Opsonines, 55, 77, 483.
— (nature des), 78.
— (recherches des), 79.
— (—) normales, 78.
— (—) spécifiques, 78.
Opsonique (applications pratiques de la détermination de l'indice), 82.
— (détermination de l'indice), 81.
— (étuve) de Hearson, 80.
Opsonisant (pouvoir), 77.
Orszag (procédé de) pour la coloration des spores, 245.
Orticoni (procédé de) pour l'ensemencement du sang, 1093.
Ouchinsky (liquide d'), 121.
Ovine (pasteurella), 662.
Oxydases, 27.
Oxygène (fixation d') par un microbe aérobie, 183.
— (procédé d'éviction de l'), 172.
Padlewsky (milieu de), 498.
Paille (infusion de), 120.
Paludéens (évolution de l'hématozoaire et courbe fébrile des), 983.
Paludisme (hématozoaire du), 958.
Pappatacis (fièvre à), 1054.
Paracolibacilles, 531.
Paraffine (enlèvement de la 254.
— (inclusion à la), 250.
— (moule à), 252.

Paralysie infantile, 1041.
Paraméningocoques, 313.
— (épreuve du péritoine), 328.
Parasite des caratés, 839.
— des dermatoses des pays chauds, 839.
— (évolution du) de la fièvre active, 987.
— (évolution du) de la fièvre automnale, 987.
— (évolution du) de la fièvre quarte, 986.
— (évolution du) de la fièvre tropicale, 987.
— (évolution du) de la tierce bénigne, 984.
— (évolution du) de la tierce maligne, 987.
— facultatifs, 37.
— de la fièvre quarte, 975.
— de la fièvre tierce, 969.
— de la fièvre des tranchées, 914.
— — (action pathogène expérimentale), 916.
— — (morphologie), 915.
— de la fièvre tropicale, 978.
— d'hématozoaire (évolution du) et courbe fébrile des paludéens, 983.
— du kala-azar indien (recherche des), 1005.
— obligés, 37.
— de la peau et du système pileux (champignons), 829.
— de la piedra, 839.
— de la pinta, 839.
— du pityriasis versicolor et de l'érythrasma, 838.
— de la trypanosomiase humaine (recherche du), 1015.
— du tokelau, 839.
Paratétragène zoogléique, 291.
Paratuberculeux (bacilles), 786.
Paratyphique A (bacille), 516.
— B (bacille), 520.
— (bacilles), 516.
Parthénogenèse, 959.
Pasteur (four), 96.
— (liquide de), 121.
— (matras), 153.
— (préparation des pipettes), 157.
— (procédé de) pour la vaccination contre la rage, 1049.
Pasteur (tube double de), 180.
— (vaccin anticholérique de l'Institut), 632.
Pasteurella des animaux sauvages, 662.
— aviaire, 657.
— — (action pathogène), 660.
— — (cultures), 658.
— — (morphologie), 658.
— — (propriétés biologiques), 658.
— — (toxines), 661.
— — (virulence). Atténuation et exaltation du virus, 659.
— — (vitalité), 658.
— bovine, 662.
— du buffle, 662.
— canine, 663.
— caprine, 663.
— équine, 663.
— ovine, 662.
— porcine, 661.
Pasteurellæ, 655.
— des animaux de laboratoire, 664.
— (caractères généraux des) 657.
Pasteurellose, 191, 192.
— (autres), 661.
— (rapport des) entre elles, 655.
— (vaccination et sérothérapie dans les), 664.
Pathogène (rôle) des bactéries, 36.
Peau (champignons parasites de la) et du système pileux, 829.
— (insertion sous la), 201.
Peigneurs de cheveux (affection des), 825.
Peptone (préparation de la solution de), 119.
— salé (bouillon), 117.
Péripneumonie des bovidés (microbe de la), 1025.
Péritoine (épreuve du) de Dopter, 328.
Perlsucht, 753.
Perquis et Sacquépée (procédé de) pour l'ensemencement du sang, 1092.
Peste (bacille de la), 637.
— bovine (virus de la), 1064.
— expérimentale (effets du sérum antipesteux sur la), 652.
Peste des oiseaux (virus de la), 1064.
— pneumonique, 648.
— pulmonaire, 647.
Petit-lait tournesolé, milieu de culture, 123.
Petri (boîte de), 154.
Petri (procédé de) sur la filtration de l'air, 1122.
Pettiti (spirochæta) (différence entre le spirochæta icterohemorragiæ et le), 902.
Pfeiffer (bacille de), 583.
— (phénomène de), 51, 68, 610.
— (recherche du coccobacille de), 588.
Phagocytes, 46.
Phagocytose, 81, 82.
Phénomène de Neufeld, 296.
— de Pfeiffer, 51, 68.
— de Théobald Smith, 87.
Philibert, Bezançon, Griffon (procédé de) pour l'analyse bactériologique du sang, 1091.
— — (procédé de) pour l'homogénéisation des crachats, 1077.
Philocytase, 48.
Philothion, 27.
Phlebotomus pappataci, 1055.
Phlogosine, 264.
Phosphorescence, 23.
Phtisie, 753.
Phycochromacées, 2.
Pian (spirochète du), 878.
Pièces chirurgicales (manière de recueillir les), 215.
Pied de madura (champignons du), 802.
Piedra (parasite de la), 839.
Pigment (conditions de la production du), 25.
— jaune verdâtre, 375.
— (production des), 24.
— vert fluorescent, 375.
Pince de Debrandt, 238.
— à mors ajourés, 194.
Pipette à boules, 158.
— (ensemencement à la), 158.
— Pasteur (préparation des), 157.
— pour ponction artérielle, 217.

Pipette de Roux pour anaérobies, 179.
— de Wright, 79.
Piqûre de la peau pour prélèvement de sang, 212.
Piroplasma bigeminum, 997.
— canis, 998.
— equi, 998.
— ovis, 998.
— parvum, 998.
Piroplasmes, 996.
— (caractères généraux), 996.
Piroplasmose des bovidés, 997.
— des chevaux, 998.
— des chiens, 998.
— du mouton, 998.
Pirquet (von) et Schick (théorie de) de l'anaphylaxie, 91.
Pisciaire (bacille), 777.
Pissette à eau, 237.
Pityriasis versicolor (parasites du), 838.
Plages sidérophiles, 943.
Plaies (exsudats des) (analyse bactériologique), 1066.
— de guerre, 1066.
Plaques de Koch, 168.
Plasmodium falciparum, 958.
— malariæ, 958, 975.
— præcox, 958, 978.
— vivax, 958, 969.
— vivax (cycle évolutif), 969.
Plateau grillagé avec mors de Malassez, 195.
— en zinc, 195.
Platine chauffante, 238.
— de Vignal, 164.
Pneumobacille, 381, 382.
— (action pathogène), 385.
— (culture), 384.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 386.
— de Friedländer, 381.
— (morphologie), 383.
— (propriétés biologiques), 385.
— (siège), 386.
Pneumococcus mucosus, 298.
Pneumocoque, 292.
— (action pathogène), 300.
— avec capsules négatives, 293.
— (classification des), 297.
— (culture), 294.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 304.
Pneumocoque hémorragique de Foa, 302.
— (morphologie), 293.
— œdématogène de Foa, 303.
— (propriétés biologiques), 296.
— (recherche du), 304.
— (sang de souris infectée par le), 302.
— (sérothérapie), 307.
— (siège), 304.
— (toxines), 303.
— (vaccination), 306.
— (vitalité), 296.
Pneumo-entérite du mouton, 662.
Pneumonie (coupe de poumon atteint de), 301.
— à pneumobacille (crachats de), 382.
Pneumonique (peste), 648.
— (sérum de) convalescent, 307.
Pneumotoxine, 303.
Poison de Vaughan, 92.
Poliomyélite épidémique (sérothérapie), 1044.
— — (virus de la), 1041.
Pommelière, 753.
Pommes de terre, 129.
— — (milieu de culture), 128.
— — glycérinées (milieu de culture), 129.
— — (infusion de), 120.
Pompe à mercure, 176.
Ponction de l'artère, 217.
— du cœur, 215.
— lombaire (technique de la), 1082.
— de veine, 212.
— de la veine d'un lapin, 216.
Porc (bacille du rouget du), 462.
— (pneumonie contagieuse du), 661.
Porcine (pasteurella), 661.
Porgès (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 873.
Porteurs de bacilles, 491.
— de germes, 439, 613.
Poules (choléra des), 192, 657.
— (diphtérie des), 193.
Poumon (coupe de) atteint de pneumonie, 301.
Pourriture d'hôpital, 737.
Poussières (analyse des), 1125.
Pouvoir antitoxique des sérums, 84.
— bactéricide des sérums, 69.
— opsonisant des sérums, 77.
— précipitant des sérums, 66.
— préventif et pouvoir curatif des sérums, 85.
Précipitation, 66.
Précipitines, 57, 66, 483.
— (caractères généraux des), 67.
— de groupe, 67.
— (rapports entre les) et les agglutinines, 68.
— (saturation des), 327.
— spécifiques, 67.
Précipito-réaction (diagnostic de l'infection tuberculeuse par la), 772.
— — (recherche du méningocoque par la), 327.
Préhension des animaux, 193.
Preisz-Nocard (bacille de), 791.
Prélèvement chez les animaux de laboratoire, 215.
— bactériologiques, 249.
— cadavériques, 220.
— des eaux, 1101.
— pour examens sur coupes, 221.
— chez l'homme, 212.
— pour investigations complètes, 220.
— des pièces chirurgicales, 215.
— des produits pathologiques, 212.
— de sang, 135, 212, 215.
— de sérosités, 213.
— pour simple examen direct, 221.
— (technique du) pour la recherche du bacille de Löffler, 435.
Préparation de la toxine diphtérique (dispositif pour la), 426.
Présure, 27.
Proca et Vasilescu (méthode de) pour la recherche du tréponème, 857.
Procédés de culture des anaérobies, 177.

Processus fétides et gangreneux (microbes anaérobies des), 720.
Produits pathologiques (examen des), 234.
— — (prélèvements des), 212.
Proteus mirabilis, 582.
— vulgaris, 581.
— — (action pathogène du), 582.
— — (cultures), 581.
— — (diagnostic de l'infection par le), 582.
— — (morphologie), 580.
Protoplasma, 6.
Prowazekia (kystes de), 957.
Pseudo-diphtériques (bacilles) et bacille diphtérique, 430.
— méningocoques, 331.
— — de Jæger, 333.
Pseudo-tétanique (bacille) de Tavel, 717.
— tuberculoses, 789.
— — des cobayes, 191.
— — microbiennes, 789.
— — des oiseaux, 192.
— — zoogléique (coccobacille de la), 789.
— — — (importance pratique de la), 790.
Psittacose, 192.
— (bacille de la), 527.
Pulmonaire (charbon), 404.
— (peste), 647.
Pinta (parasite de la), 839.
Purée de pommes de terre, 129.
Purulents (analyse des exsudats), 1086.
Pus (analyse bactériologique du), 1070.
— ano-rectal, conjonctival etc. (recherche du gonocoque dans le), 360.
— des arthrites (recherche du méningocoque dans le), 333.
— blennorragique, 350.
— bleu (bacille du), 371.
— cérébro-méningé, 360.
— génital chez la femme (recherche du gonocoque dans le), 360.
— (gonocoque dans le), 350.
— méningé (recherche du gonocoque dans le), 360.
— (prélèvement du), 214.
Pus à staphylocoque, 257.
— à streptocoque, 272.
— de testicule morveux, 457.
— urétral chez l'homme (recherche du gonocoque dans le), 359.
Pustule maligne, 403.
Putréfaction, 31.
Pyoculture, 1069.
Pyocyanase, 379.
Pyocyanine, 375, 376.
Pyocyanique (bacille), 371.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 380.
— (maladie) expérimentale, 371.
— (variétés de l'espèce), 375.
Pyocyanolysine, 35, 379.
Pyoséroculture, 1069.
Pyoxanthose, 376.
Radium (action du) sur les bactéries, 21.
Rage (vaccination contre la), 1049.
— (virus de la), 1047.
Ramond (milieu de), 475.
Ranvier (chambre humide de), 163.
Rappin (sérum antituberculeux de), 777.
Rate (recherche du bacille typhique dans la), 508.
Ratinbacillus, 528.
Rats (maladies des), 192, 195.
— (maladie léproïde des), 785.
— (trypanosome du), 1020.
Raulin (liquide de), 16.
Ravaut (méthode de) pour la recherche du tréponème, 859.
Rayons ultra-violets (action des) sur les bactéries, 21.
Réaction de fixation de Bordet-Gengou (diagnostic des maladies infectieuses par la), 76.
— de Bordet-Gengou (technique de la), 72.
— de Fleig et Sicre pour la recherche de l'indol, 477.
— de Kraus, 66.
— de Salkowsky pour la recherche de l'indol, 477.
— de Wassermann par fixation du complément, 862.
— — par fixation du complément (influence du traitement sur la), 866.
Réaction de Wassermann (procédés de simplification de la), 871.
Réaction de Widal ou application de la séro-réaction au diagnostic des infections typhoïdes humaines, 502.
— — (interprétation des résultats de la), 506.
Récepteur d'Ehrlich, 56, 57.
Réceptivité des animaux, 210.
Recherche du gonocoque dans le sang, 360.
Récipients de culture, 153.
Rectum (injection dans le), 209.
Réducteurs chimiques, 177.
— microbiens, 177.
— tissulaires, 177.
Régulateur à action directe (Lequeux), 146.
— bimétallique droit, 146.
— — en U, 145.
— de Chancel, 148.
— et étuves, 143, 145, 148.
— à membrane, 148.
— de Roux, 145, 146.
Rémy et Sugg (procédé de) pour la coloration des cils, 248.
Repères opératoires chez le cobaye (principaux), 216.
Résorption des bactéries, 48.
— des éléments figurés, 46.
Rhinosclérome (bacille du), 381, 388.
Rhumatisme articulaire aigu (bacille du), 705.
Ribbert (procédé de) pour la coloration des capsules, 243.
Richet (procédé de) pour l'analyse de l'air, 1124.
— (théorie de Ch.) de l'anaphylaxie, 91.
— et Portier (expériences de) sur l'actino-congestine, 86.
Rickettsia Prowazeki, 1031.
Rikmann et Ruppel (sérum antituberculeux de), 777.
Robin (milieu de), 475.
Rodet et Lagriffoul (sérum antityphique de), 515.

Rodet, Lagriffoul et Wahly (toxine de), 487.
Romanowski (procédé de) pour la coloration de l'hématozoaire du paludisme, 966.
Roseaux (sacs de), 207.
Rosenow (procédé de) pour la coloration des capsules, 244.
Rosenthal, culture en tube cacheté sous lanoline, 181.
— et Todd (procédé de) pour la préparation de la toxine dysentérique, 552.
Rothe (milieu de), 419.
Rougeole, 1040.
Rouget du porc (bacille du), 462.
— (trypanosome de), 1018.
Rongeurs (virus des), 528.
Roux (appareil pour produire l'hydrogène), 173.
— (étuve de), 144.
— (fioles plates de), 154.
— (fixation d'oxygène par un microbe aérobie), 183.
— (pipette de) pour anaérobies, 179.
— (procédé de) pour le développement de la bactéridie charbonneuse, 392.
— (procédé de) pour la préparation de la toxine pesteuse, 642.
— (procédé de) pour la préparation du sérum antidiphtérique, 448.
— Metchnikoff et Salimbeni (procédé de) pour la préparation de la toxine cholérique, 617.
Roux et Nocard (procédé de) pour le prélèvement de sérum sur les grands animaux, 130.
— (régulateur de), 145, 146.
— (seringue de), 197, 198.
— et Nocard (trocart de), 130.
— (tube de) pour anaérobies, 183.
— (tube droit de), 186.
— (tube en U de), 186.
— et Yersin (procédé de) pour la préparation de la toxine diphtérique, 426.
Ruppel et Rikmann (sérum antituberculeux de), 777.
Rowland et Mac Fadyan (toxine typhique de), 488.
Sabouraud (gélose de), 820.
— (gélose glucosée de), 807.
Saccharides, 28.
Saccharomyces albicans, 815
— — (cultures), 816.
— — (diagnostic bactériologique), 817.
— — (habitat et pouvoir pathogène), 817.
— — (inoculation expérimentale), 817.
— — (morphologie), 815.
— — (propriétés biologiques), 816.
Sachs et Georgi (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 874.
Sacquépée et Perquis (procédé de) pour l'ensemencement du sang, 1092.
Sacs de collodion (inclusion en), 205, 211.
— de roseaux, 207.
Salimbeni, Metchnikoff et Roux (procédé de) pour la préparation de la toxine cholérique, 617.
Salkowsky (réaction de) pour la recherche de l'indol, 477.
Salmonelloses, 516.
Sanarelli (toxine typhique de), 486.
San Felice (sérum anticharbonneux de), 409.
Sang (analyse bactériologique du), 1090.
— (ensemencement du), 1091.
— (flacon pour recueillir le), 130.
— gélosé, 139.
— (incorporation du) à d'autres milieux, 137.
— de lapin charbonneux, 390.
— milieu de culture, 295.
— (prélèvement de), 137, 212, 215.
— de rate, 399.
— de souris infectée par le pneumocoque, 302.
Saprophytique (vie) des bactéries, 36.
Sarcines, 2.
— (schéma de la production des), 10.
Saturation des agglutinines, 324.
Saturation des précipitines, 327.
Savage (procédé de) pour la recherche et la numération du colibacille, 1110.
Scarlatine, 1039.
— (streptocoque de la), 277.
Shaw (toxine typhique de), 488.
Schereschewsky (cultures de), 842.
Schick (théorie de von Pirquet et) de l'anaphylaxie, 91.
Schizogonie, 959.
Schizogoniques (kystes), 943.
Schizonte, 959.
Schmitz (bacille de), 562.
Schmorl (bacille de), 792.
Schottmüller (procédé de) pour l'ensemencement du sang, 1094.
Schueder (procédé de) pour la concentration par précipitation, 500.
Schüffner (granulations de), 970.
Schweinepest, 662.
Schweineseuche, 662.
Scissiparité, 9.
Sclavo (sérum anticharbonneux de), 409.
Sels biliaires (action des) sur le bacille typhique, 477.
Selles (analyse bactériologique des), 1098.
— (prélèvement des), 214.
Semences (conservation des), 164.
Senez et Ranque (procédé de) pour la vaccination antityphique, 511.
Sensibilisation du sérum antigonococcique, 355.
Sensibilisatrice, 48, 69, 483.
— des bacilles dysentériques du type Flexner, 556.
— du bacille paratyphique A, 518.
— du bacille paratyphique B, 523.
— du bacille de Shiga, 549.
— (mise en évidence de la) par la réaction de fixation du complément, 70.
— spécifique, 51.
— — du bacille de Löffler, 421.

Sensibilisine, 92.
Sensibilisinogène, 91.
Séparation des microbes par filtration, 171.
Septicémie, 191.
— hémorragiques, 655.
— à pseudo-pneumocoques, 192.
— vibrionienne, 614.
Septique (vibrion), 687.
Seringue en cristal, 197.
— de Debove, 197, 198.
— de Roux, 197, 198.
— (stérilisation des), 213.
Sériques (accidents), 88.
Séro-agglutination du coccobacille de la coqueluche, 595.
Sérodiagnostic de l'actinomycose, 800.
— du choléra, 630.
— de la dysenterie bacillaire, 569.
— de l'infection par le bacille paratyphique B, 526, 527.
— de l'infection gonococcique, 361.
— de l'infection tuberculeuse, 769.
— des infections typhoïdes (réaction de Widal), 502.
— de la lèpre, 785.
— de la mélitococcie, 369.
— de la morve, 460.
— de la peste, 650.
— (recherche du méningocoque par le), 347.
— de la sporotrichose, 812.
— de la syphilis, 861.
Séro-fibrineux (analyse des exsudats), 1086.
Séropronostic de la fièvre typhoïde, 507.
Sérosités albumineuses, 135.
— articulaires (recherche du gonocoque dans les), 360.
— (prélèvement de), 213.
Sérothérapie anticharbonneuse, 408.
— antidiphtérique, 443.
— antidysentérique, 574.
— antigonococcique, 362.
— antimélitococcique, 370.
— antiméningococcique, 348.
— antipesteuse, 652.
— antipneumococcique, 307.
— antistreptococcique, 283.
— antisyphilitique, 877.
Sérothérapie antitétanique, 681, 685.
— (bacillus perfringens), 704.
— du charbon symptomatique, 732.
— de la coqueluche, 596.
— de la fièvre récurrente, 888.
— de la fièvre typhoïde, 514.
— dans les pasteurelloses, 664.
— contre le rouget du porc, 467.
— staphylococcique, 267.
— de la tuberculose, 776.
— du typhus exanthématique, 1036.
— du vibrion septique, 698.
Séro-vaccination du Bacillus Chauvæi, 732.
Sérum anticharbonneux (agglutination du), 398.
— — de Marchoux, 408.
— — (recherche des anticorps dans le), 405.
— — de San Felice, 409.
— — de Sclavo, 409.
— anticholérique, 635.
— — antitoxique (propriétés du), 636.
— — (réactions du vibrion cholérique au), 608.
— anticoquelucheux, 596.
— antidiphtérique, 445.
— — (agglutination du bacille de Löffler par le), 420.
— — antimicrobien, 448.
— — antitoxique, 445.
— — (applications thérapeutiques du), 447.
— — (essai du), 447.
— — (préparation du), 445.
— — (propriétés du), 446.
— antidysentérique, 574.
— — (action du) sur les différents types du bacille dysentérique, 575.
— antiméningococcique (agglutination du), 347.
— — (mode d'emploi du), 348.
— — (pouvoir curatif du), 348.
— — (préparation du), 348.
— antipesteux (effets du) sur la peste expérimentale, 652.
— antipneumococciques expérimentaux, 307.
Sérum antirabique, 1051.
— antiscarlatineux, 285.
— antitétanique, 681.
— antituberculeux, 776.
— antityphique de Besredka, 515.
— antityphique de Chantemesse, 514.
— — de Rodet et Lagriffoul, 515.
— (prélèvement du) à l'aide de l'appareil de Latapie, 132.
— (appareil Lumière pour récolte du), 218.
— (bain-marie à stérilisation de), 105.
— de Besredka, 284.
— charbonneux (agglutination du), 398.
— coagulé (préparation du), 133.
— (dosage des), 76.
— (emploi du) à l'état liquide, 133.
— (étuve à coagulation du), 134.
— expérimentaux agglutinants (préparation des), 482.
— frais provenant d'animaux normaux (pouvoir opsonisant des), 77.
— glycériné, 139.
— hémolytique, 49.
— liquide (préparation du), 129.
— (maladie du), 89.
— de Marmorek, 284.
— (mensuration du taux agglutinatif d'un), 65.
— normaux (agglutinines des), 62.
— peptoné de Löffler, 416.
— plateau pour coaguler les tubes de), 135.
— de pneumonique convalescent, 307.
— (pouvoir agglutinant du), 59.
— (pouvoir antitoxique des), 84.
— (pouvoir bactéricide des), 8.
— (pouvoir opsonisant des), 77.
— (pouvoir précipitant des), 66.
— (pouvoir préventif et pouvoir curatif des), 85

Sérum (prélèvement du) chez les grands animaux, 130.
— (prélèvement du) chez les petits animaux, 133.
— (prélèvement du) chez l'homme, 133.
— (propriétés du) des sujets immunisés, 59.
— (réaction aux) du bacille dysentérique, 556.
— (réaction du bacille de la lèpre à l'égard des), 781.
— (réaction du bacille paratyphique A à l'égard des), 518.
— (réaction du bacille pyocyanique à l'égard du), 377.
— (réaction du bacille tuberculeux à l'égard des), 752.
— (réaction du bacillus Chauvæi à l'égard des), 728.
— (réaction du colibacille à l'égard des), 533.
— (réaction du pneumobacille à l'égard des), 385.
— (réaction du pneumocoque à l'égard des), 297.
— (réaction du Proteus vulgaris à l'action des), 581.
— (réaction du Sporotrichum Beurmanni à l'égard des), 808.
— (réaction du staphylocoque vis-à-vis des), 261.
— (réaction des trypanosomes vis-à-vis du) des sujets infectés,' 1011.
— (récolte du), 213.
— sanguin, 129.
— spécifiques (opsonines des), 78.
— — (pouvoir opsonisant des), 77.
— — (réactions du streptocoque à l'égard des), 277.
— (stérilisation des), 105.
— des sujets atteints de dysenterie bacillaire, 548.
— — atteints de mycoses (réactions de l'Actinomyces bovis à l'égard des), 798.
— des typhiques, 534.
— (vaccination antipesteuse par), 654.
— virus (vaccination anticharbonneuse par le), 408.
Sexe (influence du) sur la réceptivité, 39.
Shiga (bacille dysentérique du type), 543.
Sidérophiles (plages), 943.
Signe de Straus, 459.
Smegma (bacilles du), 787.
Smith (phénomène de Théobald), 87.
Sodoku (spirochète du), 917.
Souma, 1021.
Sous-cutanée (injection), 201, 211.
— (inoculation) du charbon expérimental, 400.
Sous-durale (injection), 203.
Spatules et baguettes d'étalement, 156.
Spengler (procédé de) pour la coloration du bacille tuberculeux, 747.
— (procédé de) pour l'homogénéisation des crachats, 1076.
Spirales, 3.
Spirille de la balanite érosive, 851.
— de la fièvre récurrente, 880.
— — récurrente (action pathogène expérimentale), 884.
— — — (cultures), 882.
— — — (immunité, sérothérapie), 888.
— — — (mode d'infection, rôle des ectoparasites), 885.
— — — (morphologie), 881.
— — — (propriétés biologiques), 883.
— d'Obermeier, 852.
Spirillum berbera, 881.
— Carteri, 881.
— gigantum, 7.
— nigrum, 723.
— Novyi, 881.
— Obermeieri, 81.
— de la tick-fever, 881.
— du Tonkin, 881.
Spirochæta bronchialis, 921.
— — (diagnostic bactériologique), 923.
— — (morphologie), 921.
— — (siège), 923.
— buccalis, 851.
— dentium, 851.
— ictero-hemorragiæ, 889.
Spirochœta ictero-hemorragiæ (action pathogène), 897.
— — (aspect dans les cultures), 893.
— — (cultures), 894.
— — (immunité), 905.
— — (morphologie), 890.
— — (propriétés biologiques), 895.
— — (recherche du) par colorations appropriées, 902.
— — (sérodiagnostic), 904.
— — (sérothérapie), 906.
— — (siège du) dans l'organisme, 899.
— — (vaccination), 906.
— — (vitalité), 895.
— pallida, 840.
— pallidula ou pertenuis, 852.
— plicatilis, 851.
— refringens, 851.
— Vincenti, 851.
Spirochètes, 3.
— des cancers ulcérés, 851.
— du pian, 878.
— — (action pathogène expérimentale), 878.
— — (morphologie), 878.
— du sodoku, 917.
— — (action pathogène chez les animaux), 918.
— — (cultures), 918.
— — (diagnostic bactériologique), 920.
— — (morphologie), 917.
— — (siège du), 918.
— de la syphilis, 840.
— — (action pathogène expérimentale), 845.
— — (cultures), 841.
— — (morphologie), 840.
— — (siège et topographie), 843.
— voisins du treponema pallidum (caractères différentiels des), 851.
Spirochétose ictéro-hémorragique, 889.
— — (diagnostic bactériologique de la), 901.
Spores (agglutination des), 842.
— (coloration des), 244.
— (signification du mot), 831.
Sporogonie, 960.
Sporotrichose, 805.

Sporotrichose (diagnostic bactériologique de la), 810.
— (séro-diagnostic de la), 812.
Sporotrichosine, 808.
Sporotrichosique (granulie) généralisée du rat, 809.
Sporotrichum, 69.
— Beurmanni, 805.
— — (cultures), 807.
— — (diagnostic bactériologique de l'infection par le), 810.
— — (fixation du complément), 813.
— — (morphologie), 805.
— — (pouvoir pathogène), 808.
— — (propriétés biologiques), 808.
— — (recherche du), 810.
Sporozoïtes (corps), 961.
Sporulation, 10.
Spotted fever, 1037.
Stade hémogrégariniforme, 970.
Staphylococcus parvulus, 724.
— pyogenes albus, 261.
— — aureus, 259.
— — citreus, 260.
Staphylocoque, 2, 257.
— (cultures), 259.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 266.
— Jungano (anaérobie), 724.
— (inoculation expérimentale; virulence), 262.
— (morphologie), 258.
— (pouvoir pathogène), 262.
— (propriétés biologiques), 261.
— (pus à), 256.
— (réactions biochimiques). 261.
— (recherche du), 266.
— (siège), 265.
— (toxine), 264.
— (vaccination et sérothérapie), 267.
— (vaccinothérapie), 267.
— (vitalité), 261.
Staphylolysine, 35, 265.
Stegomyia fasciata, 908.
Stephens (procédé de) pour la coloration des cils, 247.
Sterigmatocystis nidulans, 803.
Stérilisateur à air de Jouan, 98.
— à vapeur d'eau à 100°, 103.
Stérilisation, 95.
— par les antiseptiques, 114.
— des bougies, 107.
— par la chaleur humide, 99.
— par la chaleur sèche, 95.
— par chauffage dans la vapeur d'eau à 100°, 102.
— par chauffage discontinu dans la vapeur d'eau à 100°, 103.
— par chauffage discontinu vers 56°, 104.
— (contrôle de la), 102.
— par ébullition, 105.
— par filtration, 106.
— (préparation des objets pour la), 96.
— , principe de Tyndall, 103.
— de seringues et aiguilles, 213.
— de sérum (bain-marie à), 105.
— par la vapeur d'eau sous pression, 99.
Stériliser (préparation du liquide à), 104.
Stimulines, 52.
Stomatites ulcéro-membraneuses, 738.
Strauss (procédé de) pour la coloration des cils, 245.
— (signe de), 458.
— et Wurtz (procédé de) pour la filtration de l'air, 1123.
Streptobacilles, 10.
Streptococcus anaerobius micros, 725.
— equi, 286.
— mucosus, 294.
Streptocolysine, 36, 281.
Streptocoques, 2, 10, 269.
— anaérobies, 725.
— de l'anasarque du cheval, 285.
— de Bonome, 312.
— (classification des), 270.
— (coloration), 272.
— (cultures), 274.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 282.
— sur gélose, 276.
Streptocoque de la gourme du cheval, 285.
— de la mammite streptococcique de la vache, 285.
— (morphologie), 271.
— d'origine animale, 285.
— d'origine humaine, 271.
— (pouvoir pathogène), 277.
— (propriétés biologiques), 276.
— (recherche du) dans les exsudats des plaies, 1068.
— de la scarlatine, 277.
— (siège), 282.
— (toxine), 280.
— (vaccination et sérothérapie), 283.
Strepto-diphtérie, 425.
Streptothrix, 3.
— asteroides, 804.
— Fœrsteri, 827.
— leproides, 780.
— maduræ, 24, 802.
— maduræ (cultures), 802.
— — (morphologie), 802.
— ou Oospora maduræ, 802.
Strong (bacille dysentérique du type), 557.
Strong (procédé de) pour la vaccination anticholérique, 632.
Substance intermédiaire, 48.
— sensibilisatrice, 48.
— toxiques (formation de), 32.
— vaccinante (état de la), 509.
Substitution des gaz inertes (procédé d'éviction de l'oxygène par), 173.
Sucrase, 27.
Sucres (action du méningocoque sur les), 320.
— (fermentation des) par le pneumocoque, 296.
Surmenage (influence du) sur la réceptivité, 39.
Surra (trypanosome du), 1018.
Swine-plaque, 662.
Symbiose, 23.
Syphiline, 877.
Syphilis acquise, 843.
— (séro-diagnostic de la), 861.
— (diagnostic bactériologique de la), 852.

Syphilis expérimentale du chimpanzé, 845.
— — chez le lapin, 847.
— — de l'orang-outang, 846.
— — des singes inférieurs, 846.
Syphilis (spirochète de la), 840.
Syphilitique (préparation de l'antigène), 862.
Table refroidissante et chauffante, 167.
Talamon-Fræenkel (diplocoque de), 292.
Tarozzi (milieux de), 182.
Tavel (bacille pseudo-tétanique de), 717.
Techniques pour l'analyse bactériologique du sang, 1090, 1091.
Teignes (champignons parasites des), 829.
Température (action de la) sur les bactéries, 24.
Tétanolysine, 35, 669, 674.
Tétanos (bacille du), 665.
Tétanospasmine, 674.
Tetracoccus buccalis, 291.
Tétrades, 2.
— (schéma de la production des), 10.
Tétragène, 2, 287.
— (action pathogène), 289.
— albus, 289, 291.
— aureus, 289, 291.
— (cultures), 288.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 290.
— mobilis ventriculi, 289.
— (morphologie), 288.
— (propriétés biologiques), 289.
— ruber, 289.
— septicus, 287.
— (siège), 290.
— subflavus, 289.
— (toxine), 289.
— (virulence), 289.
— (vitalité), 289.
Tetramitus Mesnili (kystes de), 957.
Tetravaccin de Castellani, 632.
Texas (fièvre du), 997.
Theiler (trypanosome de), 1021.
Thermophiles (bactéries), 19.
Thesing (procédé de) pour la coloration des spores, 245.
Thiel (milieu de), 419.
Thomas, Arloing et Cornevin (procédé de) pour l'immunisation contre le bacillus Chauvæi, 731.
Tick-fever, 880.
Tierce bénigne (évolution du parasite de la fièvre), 984.
— maligne (évolution du parasite de la), 987.
Tietz et Lentz (milieu de), 498.
Timotheebacillus, 786.
Tinea imbricata, 839.
Tissus cellulaire et musculaire (inoculation dans les), 201.
Todd et Rosenthal (procédé de) pour la préparation de la toxine dysentérique, 552.
Tokelau, 839.
— (parasite du), 839.
Torula cerevisiæ, 1096.
Touraillons (infusion de), 120.
Toxines, 32.
— du bacille de Pfeiffer, 587.
— des bacilles dysentériques du type Flexner, 557.
— de bacille paratyphique A, 519.
— de bacille paratyphique B, 525.
— de bacillus Chauvæi, 730.
— du bacillus perfringens, 703.
— charbonneuse, 397.
— — (procédé de Boidin pour l'obtention de), 398.
— — (procédé de Marmier pour l'obtention de la), 397.
— — (vaccination par la), 408.
— cholérique, 617.
— — (propriétés de la), 618.
— du coccobacille de la coqueluche, 594.
— du colibacille, 537.
— diphtérique, 425.
— dysentérique, 552.
— — (effets pathogènes de la) sur l'animal, 554.
Toxine dysentérique (nature de la), 554.
— — (préparation de la), 552.
— — (propriétés de la), 553.
— entérococcique, 311.
— gonococcique, 358.
— (immunité contre les), 53.
— méningococcique, 323.
— de pasteurella aviaire, 661.
— pesteuse, 642.
— de Proteus vulgaris, 582.
— pyocyanique, 379.
— solubles, 32.
— du Sporotrichum Beurmanni, 808.
— staphylocoque, 264.
— streptococcique, 280.
— tétanique, 673.
— tétragène, 290.
— tuberculeuses, 761.
— typhiques, 486.
— — de Balthazard, 488.
— — de Chantemesse, 487.
— — de Conradi, 488.
— — des corps microbiens, 488.
— — de Mac Fadyan et Rowland, 488.
— — de Moreschi, 488.
— — de Rodet, Lagriffoul et Wahly, 487.
— — de Sanarelli, 486.
— — de Shaw, 488.
— — solubles, 486.
— — de Werner, 487.
— vaccinantes et toxines prédisposantes, 265.
— de vibrion septique, 697.
Toxiques (formation de substances), 32.
Trachome (virus du), 1056.
Tranchées (parasite de la fièvre des), 914.
Traumatismes (influence des) sur la réceptivité, 40.
Treponema pallidum, 840, 851.
— — Castellani, 878.
— — et du Treponema pallidulum (différenciation du), 879.
Tréponème (agglutination du), 876.
— (recherche du), 852.
— (siège et topographie), 843.

Tréponèmes de la syphilis (pluralité des), 849.
Tribondeau (méthode de) pour la coloration de l'Entamœba histolytica, 929.
— (procédé de), 334.
— (procédé de) pour la coloration de l'hématozoaire du paludisme, 968.
Tribondeau et Dubreuil (procédé de) pour la coloration du bacille de Löffler, 414.
Trichomonas caviæ, 191.
Trichophytons, 831.
— acuminatum, 833.
— chez les animaux, 835.
— asteroïdes, 834.
— cérébriforme, 833.
— (classification des), 831.
— cratériforme, 833.
— à culture duveteuse, 834.
— ectothrix faviforme, 835.
— — mégaspores, 834.
— — microïdes, 833.
— effractum, 833.
— endothrix, 832.
— equinum, 834, 835.
— exsiccatum, 833.
— néo-endothrix, 833.
— ochraceum, 835.
— polygonum, 833.
— radians, 834.
— rosaceum, 834.
— violaceum, 833.
Tripanolytique (action), 1010, 1011.
Tristeza des bovidés, 997.
Trocart de Roux et Nocard, 130.
Trois jours (fièvre de), 1054.
Trompe à eau, 175.
Truche (milieu de), 295.
Trypanosoma avium, 1022.
— Brucei, 1017.
— Cazalbœui, 1021.
— congolense, 1021.
— dimorphon, 1021.
— equinum, 1019.
— equiperdum, 1018.
— Evansi, 1018.
— gambiense, 1012.
— — (habitat et pouvoir pathogène chez l'homme), 1013.
— — (mode d'infection), 1014.
— — (morpho ogie), 1012.
— — (pouvoir pathogène expérimental), 1014.
Trypanosoma Lewisi, 1020.
— Theileri, 1021.
Trypanosomes, 192, 193, 1009.
— (caractères généraux des), 1009.
— (cultures), 1011.
— divers, 1021.
— de la dourine, 1018.
— du mal de caderas, 1019.
— du nagana, 1017.
— des oiseaux, 1022.
— Pecaudi, 1021.
— du surra, 1018.
— (tableau des principaux), 1023.
— des vertébrés à sang froid, 1022.
Trypanosomiase humaine (diagnostic bactériologique de la), 1015.
Trypsine, 27.
Tube de Buchner, 178.
— pour cultures anaérobies, sur pommes de terre, 183.
— digestif (injection dans le), 209.
— à essai profond (gélatine), 182.
— de Fraenkel, 186.
— de Lacomme, 180.
— en strie, 184.
— double de Pasteur, 180.
— de Roux pour anaérobies, 183.
— droit de Roux, 186.
— en U de Roux, 186.
— de Strauss et Wurtz, 1123.
— de Veillon, 182-186.
— de Vignal, 186.
Tuberculeux (bacille), 741.
— (crachats), 743.
Tuberculine, 35, 762.
— (anaphylaxie à la malléine et à la), 90.
— de Beraneck, 766.
— brute, 762.
— (diagnostic de l'infection tuberculeuse par la), 767.
— diverses, 765.
— ancienne de Koch, 762.
— précipitée, 765.
— T. A., 765.
— T. R. et T. O., 765.
Tuberculinothérapie, 775.
Tuberculoïdes (bacilles), 786.
Tuberculose, 752.
— (pseudo-), 789.
Tuberculoses (pseudo-) microbiennes, 789.
— (recherche de la) par l'analyse du liquide céphalo-rachidien, 1086.
— (sérothérapie de la), 776.
— type Villemin, 755.
— type Yersin, 755.
Tuteur de Physalix, 206.
Tyndall (principe de) pour la stérilisation, 103.
Typhique (bacille), 14, 469.
— guéris (persistance du bacille typhique chez les), 491.
— (sérum des), 534.
— (vaccin anti et vaccin mixte), 509.
Typhoïne, 514.
Typholysine, 35, 489.
Typhus des chiens, 663.
— exanthématique, 1028.
— — (agglutination), 1033.
— — (diagnostic bactériologique), 1035.
— — (mode de transmission du), 1030.
— — (sérothérapie du), 1036.
Ultramicroscope, 228.
— (marche des rayons dans l'), 229.
— (microscope et), 222.
— (recherche du tréponème à l'état frais par l'), 854.
— de Stiassnie, 229.
— (utilisation bactériologique de l'), 228.
Ultramicroscopie (dispositifs d'), 228.
Ultramicroscopique (aspect normal du champ), 231.
— (technique des examens), 230.
— (microbes), 1024.
Uréase, 27, 29.
Urinaire (bactérie), 535.
Urine (analyse bactériologique de l'), 1095.
— milieu de culture, 123.
— (prélèvement des), 214, 218.
— (recherches du bacille typhique dans les), 508.
Vaccin anticholérique de Ferran, 633.
— — de Haffkine, 634.

Vaccin anticholérique de l'Institut Pasteur, 632.
— — de H. Vincent, 632.
— antityphique et vaccin mixte, 509.
— (bovo-) de Behring, 774.
— sensibilisés antigonococciques, 363.
Vaccination des animaux pour la préparation du sérum antidiphtérique, 445.
— anticharbonneuse, 408.
— anticholérique, 631.
— — (effets de la) sur l'organisme humain, 633.
— anticlaveleuse, 1058.
— antidysentérique, 572.
— antimorveuse, 460.
— antipesteuse, 653.
— — par sérum-virus, 654.
— antipneumococcique, 306.
— antirabique, 1051.
— antistreptococcique, 283.
— antisyphilitique, 877.
— antitétanique, 685.
— antituberculeuse, 772.
— — des bovidés, 773.
— antityphique, 508.
— — (résultats pratiques des), 512.
— contre le bacille paratyphique B, 527.
— contre le bacille du rouget du porc, 466.
— contre le Bacillus Chauvæi, 730.
— contre le colibacille, 538.
— dans les pasteurelloses, 664.
— contre la rage, 1049.
— subintrantes, 94.
— par la toxine charbonneuse, 408.
Vaccine (virus de la), 1057.
Vaccinothérapie antigonococcique, 362.
— de la coqueluche, 596.
— de la fièvre typhoïde, 513.
— staphylococcique, 267.
Vache (streptocoque de la mammite streptococcique de la), 285.
Vahly, Rodet et Lagriffoul (toxine typhique de), 487.
Vaillard et Du Cazal (bacille de), 791.
Vallée et Leclainché (procédé de) pour l'immunisation contre le Bacillus Chauvæi, 732.
Vallée (sérum antituberculeux de), 776.
Vallet (procédé de) pour la concentration par précipitation, 500.
Van Ermengem (procédé de) pour la coloration des cils, 246.
Vannod (procédé de) toxine gonococcique, 358.
Vapeur d'eau sous pression (stérilisation par la), 99.
— à 100° (stérilisation par chauffage dans la), 103.
Vasilescu et Proca (méthode de) pour la recherche du tréponème, 857.
Vaughan (poisons de), 92.
— (théorie de) de l'anaphylaxie, 92.
Veillon (procédé de) pour la culture du bacille diphtérique, 440.
— — pour isolement, 169.
Veillon (tube de), 182, 186.
Veine (épreuve de la) Briot et Dopter, 331.
— (ponction de) pour le prélèvement du sang, 212, 216.
Ventouse scarifiée (emploi de) pour le prélèvement du sang, 212.
Vernes (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 875.
Vers à soie (flacherie des), 11.
Vertébrés à sang froid (trypanosomes des), 1022.
Vésicule biliaire (inoculation dans la), 209.
— nutritive, 964.
Vessie (bactérie pyogène de la), 535.
Vibriolysines, 36.
Vibrions (caractères distinctifs des races vibrioniennes voisines), 619.
— cholérique, 601.
— — (action pathogène expérimentale), 614.
— — atypiques ou cholérimorphes, 626.
— — (cultures), 604.
— — (détermination du taux agglutinatif du), 628.
Vibrion cholérique (morphologie), 601.
— — (persistance du) chez les convalescents et les porteurs, 613.
— — (pouvoir pathogène spécifique chez l'homme), 613.
— — (propriétés biologiques), 606.
— — (siège du) dans l'organisme, 611.
— — (vitalité dans les milieux extérieurs), 606.
Vibrion de Deneke, 619.
— d'El Tor, 628.
— de Finkler-Prior, 619, 628.
— Khegallensis, 628.
— de Massaouah, 628.
— Metchnikovi, 619.
— (recherche et identification des) dans les eaux, 630.
— septique, 687.
— — (action pathogène expérimentale), 693.
— — (cultures), 690.
— — (immunisation), 698.
— — (habitat normal du), 695.
— — (infection par le) dans les conditions naturelles, 695.
— — (morphologie), 689.
— — (propriétés biologiques), 692.
— — (sérothérapie), 699.
— — (toxine), 697.
— — (vitalité), 688.
— — (virulence), 688.
Vibrion (toxine), 617.
Vibrionienne (septicémie), 614.
Vibrio Metchnikovi, 193.
Vide (dispositif pour l'extraction de l'air par le), 175.
— avec lavage à hydrogène, 176.
— (production du), 175.
Vignal (platine chauffante de), 164.
— (tube de) pour isolement des anaérobies, 185.
Villemin (tuberculose type), 755.
Vincent (angine de), 735.
— (procédé de H.) pour la recherche et la numération du colibacille, 1109.
— (procédé) pour la vaccination antityphique 510.

Vincent (vaccin anticholérique de H.), 632.
Virulence des germes, 37.
— de l'agalactie contagieuse de la brebis et de la chèvre, 1060.
— de l'anémie pernicieuse du cheval, 1065.
— de la clavelée, 1057.
— de la dengue, 1055.
— de l'encéphalite épidémique, 1045.
— de la fièvre aphteuse, 1058.
— — fluviale du Japon, 1038.
— — tachetée des Montagnes Rocheuses, 1037.
Virus filtrants divers, 1064.
— grippal, 1052.
— du hog-choléra, 1060.
— de la maladie des chiens, 1065.
— de la peste bovine, 1064.
— — des oiseaux, 1064.
— de la poliomyélite épidémique, 1041.
— à inoculer (préparation et dosage des), 199.
— de la rage, 1047.
— des rongeurs, 528.
— de la rougeole, 1040.
— de la scarlatine, 1039.
— syphilitique dermotrope, 849.
— syphilitique neurotrope, 849.
— du trachome, 1056.
— du typhus exanthématique, 1028.
— de la vaccine, 1057.
Virus d'une variété de diphtérie aviaire, 1027.
Viscères (bouillon de), 118.
Vitalité du spirochæta icterohemorragiæ, 895.
Vivien (fiole de), 154.
Voges et Frænkel (liquide de), 122.
Voies biliaires (inoculation dans les), 209.
— circulatoires (inoculation dans les), 201.
— digestives (inoculation dans les), 208.
— — (inoculation par les) du charbon expérimental, 401.
— respiratoires (inoculation dans les), 207.
Von Lingelsheim (procédé de), 338.
Wadsworth (procédé de) pour la coloration des capsules, 244.
Walker (procédé de) pour la coloration des kystes amibiens intestinaux, 953.
Wassermann (procédé de) pour la vaccination anticholérique, 631.
— (réaction de) par fixation du complément, 862.
Weeks (bacille de), 590.
Weichselbaum (méningocoque de), 313.
Weil-Félix (réaction de) pour la réalisation du diagnostic bactériologique du typhus exanthématique, 1035.
Welch (bacille de), 686.
Werbitzki (milieu de), 498.
Werner (toxine typhique de M. et Mme A.), 487.
Widal (interprétation des résultats de la réaction de), 506.
— (réaction de) ou application de la séro-réaction au diagnostic des infections typhoïdes humaines, 502.
— et Salimbeni (procédé de) pour la vaccination antityphique), 511.
Wildseuche, 662.
Wright-Leishman (procédé de) pour la vaccination antityphique, 510.
— (pipette de), 79.
— (procédé de) pour l'étude biologique des exsudats des plaies, 1069.
Wurtz (dispositif de) pour culture en flacon, 180.
— et Strauss (procédé de) pour la filtration de l'air, 1123.
Yersin (bacille de), 637.
— et Roux (procédé de) pour la préparation de la toxine diphtérique, 425.
— (tuberculose type), 755.
Zabolotny (expériences de) relatives à l'action pathogène du vibrion cholérique, 616.
Zettnow (procédé de) pour la coloration des cils, 247.
Ziehl-Neelsen (procédé de) pour la coloration du bacille de Koch, 746.
Zygote, 961.
Zymase 27.

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE PREMIER. — **CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES MICROBES** 1

Place des microbes parmi les êtres vivants 1
Formes et dimensions des bactéries 2
Pléomorphisme des bactéries 3
Structure 5
Mobilité 7

CHAPITRE II. — **NOTIONS SOMMAIRES SUR LA PHYSIOLOGIE DES MICROBES** 9

Reproduction 9
Respiration. — Aérobies et anaérobies 13
Nutrition 15
Assimilation 17
Désassimilation 18
Action des agents extérieurs sur les bactéries 19
Production de chaleur 23
Production de lumière. — Phosphorescence 23
Production de pigments 24
Sécrétion de diastase 26
Actions fermentatives. — Fermentations 27
Formations de substances toxiques 32
Vie saprophytique et rôle pathogène des bactéries. — L'infection 36

CHAPITRE III. — **IMMUNITÉ** 41

Notions sommaires sur le mécanisme de l'immunité 42
Théories physico-chimiques 55

CHAPITRE IV. — **PROPRIÉTÉS DU SÉRUM DES SUJETS IMMUNISÉS** 59

Pouvoir agglutinant. — Agglutination 59
Pouvoir précipitant. — Précipitation 66
Pouvoir bactéricide. — Bactériolyse 68
Pouvoir opsonisant, opsonines, bactériotropines 77
Pouvoir antitoxique 84
Pouvoir préventif et pouvoir curatif 85

CHAPITRE V. — **ANAPHYLAXIE** 86

CHAPITRE VI. — **STÉRILISATION** 95

I. — Stérilisation par la chaleur sèche 95
II. — Stérilisation par la vapeur humide 99
III. — Stérilisation par filtration 106
IV. — Stérilisation par les antiseptiques 114

CHAPITRE VII. — **MILIEUX DE CULTURE**..... 116

Préparation. — I. — Milieux non albumineux liquides..... 117
II. — Milieux non albumineux solides..... 123
III. — Milieux albumineux purs..... 129
IV. — Milieux albumineux composés..... 138

Conservation et transvasement des milieux..... 139

CHAPITRE VIII. — **ÉTUVES ET RÉGULATEURS**..... 143

CHAPITRE IX. — **PROCÉDÉS DE CULTURE ET ENSEMENCEMENT DES MICROBES AÉROBIES**..... 153

I. — Procédés de culture habituels..... 153
II. — Ensemencements..... 155
III. — Incubation et observation ultérieure..... 161
IV. — Procédés de culture exceptionnels..... 163

CHAPITRE X. — **ISOLEMENT DES MICROBES AÉROBIES.** 165

I. — Méthodes générales..... 165
II. — Méthodes spéciales..... 170

CHAPITRE XI. — **CULTURE ET ISOLEMENT DES ANAÉROBIES**..... 172

I. — Procédés d'éviction de l'oxygène..... 172

II. — Procédés de culture des anaérobies..... 177

III. — Isolement des anaérobies..... 184

CHAPITRE XII. — **INOCULATION DES ANIMAUX**..... 188

I. — Animaux de laboratoire..... 188

Maladies des animaux de laboratoire..... 191
Préhension, contention et anesthésie des animaux..... 193

II. — Les inoculations..... 196

Technique des inoculations..... 200
Observation des animaux inoculés..... 209
Choix de l'espèce animale à inoculer et mode d'inoculation..... 210

CHAPITRE XIII. — **PRÉLÈVEMENT DES PRODUITS PATHOLOGIQUES**..... 212

I. — Prélèvements sur le vivant..... 212

II. — Autopsies..... 218

III. — Prélèvements cadavériques..... 220

CHAPITRE XIV. — **MICROSCOPE ET ULTRA-MICROSCOPE**..... 222

I. — Microscope..... 222

II. — Ultra-microscope..... 228

III. — Lames et lamelles..... 232

CHAPITRE XV. — **EXAMEN MICROSCOPIQUE ET COLORATION DES MICROBES** 233

I. — Examen sans coloration à l'état humide 233

II. — Colorants et solutions colorantes 234

III. — Coloration à l'état frais 236

IV. — Coloration à l'état sec sur lames 237

Coloration simple 237
Coloration par la méthode de Gram 240
Méthodes spéciales 242
Coloration des capsules 243
Coloration des spores 244
Coloration des cils 245

CHAPITRE XVI. — **COUPES BACTÉRIOLOGIQUES** 249

Coloration 254

CHAPITRE XVII. — **STAPHYLOCOQUE** 257

Morphologie 258
Cultures 259
Propriétés biologiques 261
Pouvoir pathogène 262
Toxine 264
Siège 265
Diagnostic bactériologique de l'infection 266
Vaccination et sérothérapie 267

BOTRYOMYCOSE 267

CHAPITRE XVIII. — **STREPTOCOQUE** 269

STREPTOCOQUE D'ORIGINE HUMAINE 271

Morphologie 271
Cultures 274
Propriétés biologiques 276
Pouvoir pathogène 277
Toxine 280
Siège. — Diagnostic bactériologique de l'infection 282
Vaccination. — Sérothérapie 283

STREPTOCOQUE D'ORIGINE ANIMALE 285

CHAPITRE XIX. — **TÉTRAGÈNE** 287

Morphologie. — Cultures 288
Propriétés biologiques. — Action pathogène 289
Toxine. — Siège 290
Diagnostic bactériologique de l'infection 290

PARATÉTRAGÈNE ZOOGLÉIQUE 291

CHAPITRE XX. — **PNEUMOCOQUE** 292

Morphologie 293
Cultures 294

Propriétés biologiques..... 296
Classification des pneumocoques..... 297
Action pathogène..... 300
Toxine..... 303
Siège. — Diagnostic bactériologique de l'infection..... 304
Vaccination..... 306
Sérothérapie..... 307

CHAPITRE XXI. — **ENTÉROCOQUE**..... 309

Morphologie..... 309
Cultures..... 310
Propriétés biologiques. — Toxine. — Siège..... 311
Agent pathogène..... 311
Diagnostic bactériologique de l'infection..... 312

STREPTOCOQUE DE BONOME..... 312

CHAPITRE XXII. — **MÉNINGOCOQUE**..... 313

Historique..... 313
Caractères communs à tous les méningocoques..... 314
Morphologie..... 314
Cultures..... 317
Propriétés biologiques..... 319
Siège du méningocoque dans l'organisme humain..... 320
Action pathogène expérimentale..... 322
Toxine..... 323
Caractères spéciaux à chacune des variétés A, B, C, D de méningocoques..... 324
Agglutination..... 324
Précipitation. — Bactériolyse..... 327
Caractères distinctifs des pseudo-méningocoques..... 331
Diagnostic bactériologique de l'infection..... 333
Sérothérapie..... 348

CHAPITRE XXIII. — **GONOCOQUE**..... 350

Morphologie..... 350
Cultures..... 352
Propriétés biologiques..... 354
Action pathogène..... 356
Diagnostic bactériologique de l'infection..... 359
Sérothérapie..... 362
Vaccinothérapie..... 363

CHAPITRE XXIV. — **MICROCOCCUS MELITENSIS**..... 364

Morphologie. — Cultures..... 365
Propriétés biologiques..... 365
Conditions de l'infection naturelle..... 366
Action pathogène expérimentale..... 367
Diagnostic bactériologique de la mélitococcie..... 368
Vaccination. — Sérothérapie..... 370

CHAPITRE XXV. — **BACILLE PYOCYANIQUE**..... 371
Morphologie. — Cultures..... 372

Propriétés biologiques..... 373
Action pathogène..... 377
Toxine. — Siège..... 379
Diagnostic bactériologique de l'infection..... 380
Vaccination. — Sérothérapie..... 380

CHAPITRE XXVI. — **BACILLES ENCAPSULÉS. — PNEUMOBACILLE**..... 381

PNEUMOBACILLE..... 381

Morphologie..... 383
Cultures..... 384
Propriétés biologiques. — Action pathogène..... 385
Siège. — Diagnostic bactériologique de l'infection..... 386

BACILLUS LACTIS AEROGENES..... 387
BACILLE DU RHINOSCLÉROME..... 388
BACILLUS CAPSULATUS MUCOSUS..... 388

CHAPITRE XXVII. — **BACTÉRIDIE CHARBONNEUSE**..... 389

Morphologie..... 389
Cultures..... 392
Propriétés biologiques..... 394
Pouvoir pathogène..... 398
Répartition de la bactéridie charbonneuse dans l'organisme..... 403
Nature de l'infection charbonneuse..... 403
Diagnostic de l'infection charbonneuse..... 404
Recherche de la bactéridie charbonneuse dans les milieux extérieurs..... 406
Immunité. — Vaccination..... 406
Sérothérapie..... 408

CHAPITRE XXVIII. — **BACILLE DIPHTÉRIQUE**..... 410

Morphologie..... 411
Cultures..... 415
Propriétés biologiques..... 417
Habitat. — Persistance. — Associations secondaires..... 421
Action pathogène expérimentale..... 423
Toxine diphtérique..... 425
Bacille diphtérique et bacilles diphtérimorphes..... 430
Diagnostic bactériologique, de la diphtérie..... 436
Recherche des porteurs de germes..... 439
Immunité..... 444
Sérum antidiphtérique..... 445

CHAPITRE XXIX. — **BACILLE DE LA MORVE**..... 450

Morphologie. — Cultures..... 451
Caractères biologiques..... 452
Habitat et manifestations pathologiques..... 455
Infection morveuse expérimentale..... 455
Diagnostic bactériologique de la morve..... 458
Immunité. — Vaccination..... 460

CHAPITRE XXX. — **BACILLE DU ROUGET DU PORC** 462

Morphologie. — Cultures 463
Propriétés biologiques. — Action pathogène expérimentale ... 464
Diagnostic bactériologique de l'infection 465
Vaccination. — Sérothérapie 466

CHAPITRE XXXI. — **BACILLE TYPHIQUE** 469

Morphologie 469
Cultures 471
Propriétés biologiques 475
Pouvoir pathogène 483
Toxines 486
Siège. — Habitat 489
Procédés de recherche du bacille typhique 492
Diagnostic bactériologique de l'infection 501
Vaccination 508
Vaccinothérapie 513
Sérothérapie 514

CHAPITRE XXXII. — **BACILLES PARATYPHIQUES ET SALMONELLOSES** 516

BACILLE PARATYPHIQUE A 516

Morphologie 516
Cultures 517
Propriétés biologiques 518
Pouvoir pathogène. — Siège. — Toxines 519

SALMONELLOSES. — BACILLE PARATYPHIQUE B 520

Morphologie. — Cultures 521
Propriétés biologiques 522
Action pathogène 524
Toxines. — Siège 525
Diagnostic bactériologique de l'infection 526

Bacille de la psittacose 527
Bacille du hog-choléra 527
Virus des rongeurs 528
Bacille de Gartner 529

CHAPITRE XXXIII. — **COLIBACILLE** 530

Morphologie. — Cultures 531
Propriétés biologiques 533
Anomalies du colibacille. — Paracolibacilles 534
Action pathogène 535
Toxines. — Siège 537
Vaccination. — Diagnostic bactériologique de l'infection 538

CHAPITRE XXXIV. — **BACILLUS FÆCALIS ALCALIGENES.** 540

CHAPITRE XXXV. — **BACILLE DYSENTÉRIQUE** 542

BACILLES DYSENTÉRIQUES DU TYPE SHIGA 543
Morphologie. — Aspect microscopique 543

Cultures..... 544
Propriétés biologiques..... 545
Action pathogène. — Dysenterie expérimentale..... 549
Toxine dysentérique..... 552

Bacilles dysentériques du type Flexner..... 555
Bacilles dysentériques du type Y de Hiss..... 557
Bacilles intermédiaires dits « atypiques »..... 561

Diagnostic bactériologique de la dysenterie bacillaire..... 565
Vaccination..... 572
Sérothérapie..... 574

Chapitre XXXVI. — **PROTEUS VULGARIS**..... 580

Chapitre XXXVII. — **BACILLE DE PFEIFFER**..... 583

Morphologie..... 583
Cultures..... 584
Propriétés biologiques..... 586
Action pathogène..... 587
Recherche du coccobacille de Pfeiffer..... 588

Chapitre XXXVIII. — **BACILLE DE WEEKS**..... 590

Chapitre XXXIX. — **COCCOBACILLE DE LA COQUELUCHE**..... 591

Morphologie..... 591
Cultures..... 592
Propriétés biologiques..... 593
Diagnostic bactériologique de l'infection..... 595
Sérothérapie et vaccinothérapie..... 596

Chapitre XL. — **BACILLE DU CHANCRE MOU**..... 597

Morphologie..... 597
Siège du bacille de Ducrey..... 598
Action pathogène expérimentale..... 599
Diagnostic bactériologique de l'infection..... 600

Chapitre XLI. — **VIBRION CHOLÉRIQUE**..... 601

Morphologie..... 601
Cultures..... 604
Propriétés biologiques..... 606
Siège du vibrion cholérique dans l'organisme..... 611
Pouvoir pathogène spécifique chez l'homme..... 613
Action pathogène expérimentale..... 614
Toxine cholérique..... 617
Caractères distinctifs des races vibrioniennes voisines..... 619
Diagnostic bactériologique du choléra..... 620
Recherche et identification du vibrion cholérique dans les eaux. 630
Vaccination..... 631
Sérum anticholérique..... 635

Chapitre XLII. — **BACILLE DE LA PESTE**..... 637

Morphologie..... 637

Cultures..... 639
Propriétés biologiques..... 640
Divers habitats du bacille pesteux..... 643
Action pathogène expérimentale. — Voies d'infection..... 645
Diagnostic bactériologique de l'infection..... 647
Sérothérapie..... 652
Vaccination préventive humaine..... 653

CHAPITRE XLIII. — **PASTEURELLOSES**..... 655

Caractères généraux des « Pasteurella »..... 657

COCCOBACILLE DU CHOLÉRA DES POULES (PASTEURELLA AVIAIRE). 657

Morphologie. — Cultures..... 658
Propriétés biologiques..... 658
Virulence. — Atténuation et exaltation du virus..... 659
Action pathogène..... 660
Toxines..... 661

AUTRES PASTEURELLOSES..... 661

Vaccination et sérothérapie dans les pasteurelloses..... 664

CHAPITRE XLIV. — **BACILLE DU TÉTANOS**..... 665

Morphologie..... 666
Cultures..... 667
Propriétés biologiques..... 668
Habitat du bacille tétanique. — Pouvoir pathogène..... 670
Action pathogène expérimentale..... 672
Toxine tétanique..... 673
Mécanisme de l'infection tétanique dans les conditions naturelles..... 678
Diagnostic de l'infection tétanique..... 680
Sérum antitétanique..... 681

CHAPITRE XLV. — **GANGRÈNE GAZEUSE. VIBRION SEPTIQUE**..... 687

Morphologie..... 689
Cultures..... 690
Propriétés biologiques..... 692
Action pathogène expérimentale..... 693
Habitat normal du vibrion septique..... 695
Infection dans les conditions naturelles..... 695
Toxine..... 697
Immunisation. — Sérothérapie..... 698

CHAPITRE XLVI. — **BACILLUS PERFRINGENS**..... 700

Morphologie..... 700
Caractères de cultures..... 701
Propriétés biologiques. — Action pathogène..... 702
Toxine..... 703
Sérothérapie..... 704

BACILLE DU RHUMATISME ARTICULAIRE AIGU..... 705

CHAPITRE XLVII. — **BACILLUS BELLONENSIS ET BACILLUS ŒDEMATICUS** 706

Morphologie 706
Cultures 708
Propriétés biologiques. — Action pathogène 709
Toxine. — Sérothérapie 711

BACILLUS ŒDEMATICUS 712

Morphologie. — Cultures 712
Propriétés biologiques 713
Toxine. — Sérothérapie 714

CHAPITRE XLVIII. — **AUTRES BACTÉRIES ANAÉROBIES RECONTRÉES DANS LA GANGRÈNE GAZEUSE** 715

BACILLUS SPOROGENES 715
BACILLUS PUTRIFICUS 717
BACILLUS FALLAX 718
BACILLUS AEROFŒTIDUS 718
BACILLUS HISTOLYTICUS 718

CHAPITRE XLIX. — **MICROBES ANAÉROBIES DES PROCESSUS FÉTIDES ET GANGRENEUX** 720

BACILLUS PERFRINGENS 720
BACILLUS RAMOSUS 721
BACILLUS FUNDULIFORMIS 721
BACILLUS FRAGILIS 722
BACILLUS SERPENS 722
BACILLE NEIGEUX 722
BACILLUS NEBULOSUS 723
BACILLUS RADIIFORMIS 723
SPIRILLUM NIGRUM 723
DIPLOCOCCUS RENIFORMIS 723
STAPHYLOCOCCUS PARVULUS 724
STAPHYLOCOQUE DE JUNGANO 724
MICROCOCCUS FŒTIDUS 724
STREPTOCOQUES ANAÉROBIES 725

CHAPITRE L. — **CHARBON SYMPTOMATIQUE. — BOTULISME. — BACILLUS BIFIDUS** 726

BACILLUS CHAUVÆI (CHARBON SYMPTOMATIQUE) 727

Morphologie. — Cultures 727
Propriétés biologiques 728
Action pathogène. — Toxine 729
Vaccination 730
Sérothérapie 732

BACILLUS BOTULINUS 733
BACILLUS BIFIDUS 734

CHAPITRE LI. — **BACILLE FUSIFORME** 735

Morphologie 735

Cultures..... 736
Action pathogène..... 737
Recherche et diagnostic..... 740

CHAPITRE LII. — **BACILLE TUBERCULEUX**..... 741

Morphologie..... 743
Cultures..... 747
Propriétés biologiques..... 751
Action pathogène..... 752
Siège..... 760
Toxines..... 761
Diagnostic bactériologique de l'infection..... 766
Vaccination..... 772
Thérapeutique bactériologique..... 775
BACILLE PISCIAIRE..... 777

CHAPITRE LIII. — **BACILLE DE LA LÈPRE**..... 779

Morphologie..... 779
Cultures..... 780
Réactions à l'égard des sérums..... 781
Pouvoir pathogène. — Siège..... 782
Diagnostic bactériologique de l'infection..... 783
Thérapeutique bactériologique..... 785
MALADIE LÉPROIDE DES RATS..... 785

CHAPITRE LIV. — **BACILLES ACIDO-RÉSISTANTS. — PSEUDO-TUBERCULOSES**..... 786

BACILLES ACIDO-RÉSISTANTS..... 786
PSEUDO-TUBERCULOSES..... 789

Pseudo-tuberculoses microbiennes..... 789

CHAPITRE LV. — **ACTINOMYCES BOVIS**..... 794

Morphologie..... 794
Cultures..... 796
Propriétés biologiques..... 797
Habitat. — Action pathogène..... 798
Action pathogène expérimentale..... 799
Diagnostic bactériologique de l'actinomycose..... 800
Actinobacillose..... 801

CHAPITRE LVI. — **CHAMPIGNONS DU PIED DE MADURA.** 802

« **Streptothrix** » **ou** « **Oospora Maduræ** » 802
Autres parasites..... 803

CHAPITRE LVII. — **STREPTOTHRIX ASTEROIDES**..... 804

CHAPITRE LVIII. — **SPOROTRICHUM BEURMANNI**.... 805

Morphologie..... 805
Cultures..... 807
Propriétés biologiques. — Pouvoir pathogène..... 808
Diagnostic bactériologique de la sporotrichose..... 810

CHAPITRE LIX. — **SACCHAROMYCES ALBICANS**..... 815

Morphologie..... 815
Cultures. — Propriétés biologiques..... 816
Habitat et pouvoir pathogène. — Inoculation expérimentale.. 817
Diagnostic bactériologique..... 817

CHAPITRE LX. — **CRYPTOCOCCUS FARCIMINOSUS**..... 818

CHAPITRE LXI. — **ASPERGILLUS FUMIGATUS**..... 823

Morphologie..... 823
Cultures. — Propriétés biologiques..... 824
Habitat. — Mode d'infection chez l'homme..... 825
Action pathogène expérimentale..... 825
Diagnostic bactériologique..... 826

CHAPITRE LXII. — **AUTRES OOSPOROSES**..... 827

CHAPITRE LXIII. — **CHAMPIGNONS PARASITES DE LA PEAU ET DU SYSTÈME PILEUX**..... 829

I. — Champignons parasites des teignes..... 829

Technique générale..... 829
A. — Trichophytons..... 831
B. — Microsporons..... 835
C. — Achorions..... 837

II. — Parasites du pityriasis versicolor et de l'érythrasma..... 838

III. — Parasites des dermatoses des pays chauds..... 839

CHAPITRE LXIV. — **SPIROCHÈTE DE LA SYPHILIS**..... 840

Morphologie..... 840
Cultures..... 841
Siège et topographie du tréponème..... 843
Action pathogène expérimentale..... 845
Caractères différentiels des spirochètes voisins..... 851
Diagnostic bactériologique de la syphilis..... 852

Recherche du tréponème..... 852
Inoculation à l'animal..... 861
Sérodiagnostic..... 861
Cuti-réaction..... 876

Essais de vaccination..... 877
Essais de sérothérapie..... 877

CHAPITRE LXV. — **SPIROCHÈTE DU PIAN**..... 878

CHAPITRE LXVI. — **SPIRILLE DE LA FIÈVRE RÉCURRENTE**..... 880

Morphologie..... 881
Cultures..... 882
Propriétés biologiques..... 883
Action pathogène expérimentale..... 884

Mode d'infection ; rôle des ectoparasites..... 885
Diagnostic bactériologique..... 887
Immunité. — Sérothérapie..... 888

CHAPITRE LXVII. — **SPIROCHÆTA ICTEROHEMORRAGIÆ**..... 889

Morphologie..... 890
Cultures..... 894
Propriétés biologiques..... 895
Action pathogène..... 897
Identité des virus murin et humain..... 901
Diagnostic bactériologique de la spirochétose ictéro-hémorragique..... 901
Immunité..... 905

CHAPITRE LXVIII. — **LEPTOSPIRA ICTEROIDES**..... 907

Morphologie. — Cultures..... 909
Propriétés biologiques..... 909
Essais de sérothérapie..... 913

CHAPITRE LXIX. — **PARASITE DE LA FIÈVRE DES TRANCHÉES**..... 914

Morphologie..... 915
Action pathogène..... 916

CHAPITRE LXX. — **SPIROCHÈTE DU SODOKU**..... 917

Morphologie..... 917
Siège..... 918
Action pathogène chez les animaux..... 918
Diagnostic bactériologique..... 920

CHAPITRE LXXI. — **SPIROCHÆTA BRONCHIALIS**..... 921

CHAPITRE LXXII. — **AMIBES**..... 924

Amibe dysentérique..... 924
Entamœba tetragena..... 925
Entamœba histolytica..... 927

Cultures. — Propriétés biologiques..... 934
Pouvoir pathogène de l'amibe dysentérique..... 938
Manifestations pathologiques..... 938
Dysenterie amibienne expérimentale..... 939

Amibe vulgaire du côlon (Entamœba coli)..... 940

AUTRES AMIBES..... 945

Amibiase intestinale..... 947

CHAPITRE LXXIII. — **HÉMATOZOAIRE DU PALUDISME**..... 958

Morphologie. — Evolution de l'hématozoaire..... 958
Plasmodium vivax..... 969
Plasmodium malariæ..... 975

Plasmodium præcox..... 978
Action pathogène expérimentale..... 990
Recherche de l'hématozoaire..... 991

CHAPITRE LXXIV. — **PIROPLASMES**..... 996

Piroplasma bigeminum..... 997
Piroplasma parvum..... 998
Piroplasma ovis..... 998
Piroplasma equi..... 998
Piroplasma canis..... 998

CHAPITRE LXXV. — **ANAPLASMA MARGINALE**..... 1000

CHAPITRE LXXVI. — **LEISHMANIA**..... 1002

Leishmania Donovani..... 1002

Morphologie..... 1002
Cultures..... 1003
Habitat dans l'organisme..... 1004
Mode d'infection. — Hôte intermédiaire..... 1005
Recherche du parasite..... 1005

Leishmania infantum..... 1006
Leishmania furonculosa..... 1008

CHAPITRE LXXVII. — **TRYPANOSOMES**..... 1009

Caractères généraux des trypanosomes..... 1009
Trypanosoma gambiense..... 1012

Morphologie..... 1012
Habitat et pouvoir pathogène chez l'homme..... 1013
Mode d'infection..... 1014
Pouvoir pathogène expérimental..... 1014
Diagnostic bactériologique de la trypanosomiase humaine..... 1015

Trypanosoma Brucei (Tr. du nagana)..... 1017
Trypanosoma Rougeti ou equiperdum (dourine)..... 1018
Trypanosoma du surra (Tr. Evansi)..... 1018
Trypanosome du mal de Caderas (Tr. equinum)..... 1019
Trypanosome du rat (Tr. Lewisi)..... 1020
Autres trypanosomes..... 1021

CHAPITRE LXXVIII. — **MICROBES ULTRAMICROSCOPIQUES DITS « INVISIBLES »**..... 1024

Microbe de la péripneumonie des bovidés..... 1025
Diphtérie aviaire..... 1027
Typhus exanthématique..... 1028
Fièvre tachetée des Montagnes Rocheuses..... 1037
Fièvre fluviale du Japon..... 1038
Scarlatine..... 1039
Rougeole..... 1040
Poliomyélite épidémique..... 1041
Encéphalite épidémique..... 1045
Rage..... 1047

Grippe 1052
Fièvre de trois jours ou fièvre à pappatacis 1054
Virus de la dengue 1055
Virus du trachome 1056
Virus de la vaccine 1057
Virus de la clavelée 1057
Virus de la fièvre aphteuse 1058
Virus du hog-choléra 1060
Virus de l'agalactie contagieuse de la brebis et de la chèvre. 1060
Bacterium intestinale 1061
Autres virus ultramicroscopiques 1064

CHAPITRE LXXIX. — **ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES APPLIQUÉES A LA CLINIQUE** 1066

Analyse bactériologique des exsudats des plaies 1066
Analyse bactériologique du pus 1070
Analyse bactériologique des crachats 1073
Analyse bactériologique des angines 1078
Analyse bactériologique du liquide céphalo-rachidien 1082
Analyse des exsudats séro-fibrineux 1086
Analyse bactériologique du sang 1090
Analyse bactériologique de l'urine 1095
Analyse bactériologique des selles 1098

CHAPITRE LXXX. — **ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES APPLIQUÉES A L'HYGIÈNE** 1101

Analayse bactériologique des eaux 1104

Principes généraux de l'analyse bactériologique des eaux. 1104
I. — Analyse quantitative. Numération des germes 1105
II. — Analyse qualitative 1108
III. — Interprétation des résultats 1112
IV. — Flore bactérienne des eaux 1113

Analyse bactériologique de l'air 1121

Appareils pour l'analyse de l'air 1121
Analyse quantitative 1124
Analyse qualitative 1125
Analyse des poussières 1125

2029-20. — Corbeil. Imprimerie CRÉTÉ.

PRESERVATION REVIEW

5/05 _____ _____

E. Stechert & Co.
Alfred Hafner
New York

UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA

3 0112 072535781